

비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 방법에 따른 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 Protox 저해 활성에 관한 이해

성낙도* · 송종환¹ · 박경음

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹한국화학연구원 세포화학연구소

(2004년 10월 14일 접수; 2004년 11월 25일 수리)

새로운 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 구조 변화에 의한 벼 (*Oryza sativa* L.)와 논피 (*Echinochloa crus-galli*) 뿌리와 줄기 부위의 protox 저해활성에 대한 3차원적 구조-활성관계(3D-QSAR)에 근거하여(성낙도, 등 (2004) 한국응용생명화학회지 47(3), 351-356) 비교분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 방법으로 연구하였다. 두 종류의 부위별 protox 저해활성에 관한 CoMSIA 모델들은 수소결합 주계장이 제외된 입체장, 정전기장, 소수성장, 수소결합 반계장 등으로 조합된 CoMSIA장과 부가적 설명 인자로서 LUMO 분자 궤도장, 몰라 굴절율(MR) 및 쌍극자 능률(DM) 등이 추가된 조건에서 유도되었다. 방제 대상인 논피에 대한 모델이 벼에 대한 모델보다 양호하였으며 논피에 대한 모델은 cross-validated r^2_{cv} 값($q^2 = 0.871-0.913$)과 non cross-validated r^2_{ncv} 값(0.936-0.920) 그리고 PRESS 값(0.255-0.273)에 근거하여 매우 좋은 예측성을 나타내었다. 그리고 protox 저해 활성은 분자의 입체장(5.4-15.7%) 및 소수성장(68.0-84.3%)과 높은 상관성을 보였다. 이같은 CoMSIA 분석결과, 논피에 대한 선택적인 protox 저해활성은 C-phenyl 고리상 ortho-위치가 steric bulky 할수록 클 것으로 예상되었다.

Key words: 3D-QSAR, 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzenes, herbicidal activity, rice plant (*Oryza sativa* L.), barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), CoMSIA model.

서 론

Protox(protochlorophyrinogen oxidase) 저해성 peroxidizing herbicide 들¹⁾은 대부분 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino group중 alkoxyanilino-치환체들의 구조 변형에 따른 제조활성에 관하여 보고하고 있으며²⁾ 특히, 헤테로 고리의 변화에 따른 연구가 활발하게 진행되고 있다.³⁾ 헤테로 고리형의 8가지 유형중에서 가장 많은 것은 cyclopentane, tetrahydro phthalimide 및 bicyclo five-membered heterocyclic 유도체들로 cyclopentane 고리의 역할은 alicyclic 및 benzene 고리의 위치를 고정하는 입체성 요소로 기여한다.

Protox의 기질인 protogen과 imide형 저해제들 사이의 분자 유사성(molecular similarity) 을 토대로⁴⁾ 차세대 protox 저해제로서 benzoheterocyclic uracil 유도체들에 관한 연구가 이루어지고 있다.⁵⁾ 그리고 근래, 저자들에 의하여^{6,7)} N-치환 phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide와 N-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 유도체들의 살초 활성에 관한 분자 유사성은 물론, CoMFA 분석에 관하여 보고한 바 있다. 특히, 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 protox 저해 활성에 관한 CoMFA 및 HQSAR 분석결과,^{8,9)} 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino group중, C5원자 위치에 alkoxyanilino-기의 변화가 C-phenyl 고리의 변화보다 살초 활성에 큰 영향을 미친다는 사실을 알았다.

본 연구에서는 앞서의 보고를 바탕으로^{8,9)} 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 구조 변화에 의한 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피(*Echinochloa crus-galli*) 뿌리와 줄기 부위의 protox 저해활성에 미치는 구조상 수소 결합성장(hydrogen-bond field), 소수성장(hydrophobic field) 및 친수성장(hydrophilic field) 등을 구체적으로 알아보기 위하여 3차원적인 구조-활성 상관관계(3D-QSAR)¹⁰⁾를 비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA)¹¹⁾ 방법으로 검토하였다.

재료 및 방법

기질 분자의 모델링. 기질 분자로는 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체(Fig. 1)의 A = 3,4,5,6-tetrahydrophthalimino(1~20), B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl(21~43) 및 C = 3,4-dimethylmale imino(44~54) 치환체 54개를¹²⁾ 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피(*Echinochloa crus-galli*)의 뿌리와 줄기에 대하여 protox 저해활성 즉, 살초 활성 값(obs. pI_{50})를 측정하였다.⁸⁾ 전보와 같이 46개 화합물을 training set로 설정하여 두 종류의 부위별로 4개의 CoMSIA 모델을 유도하고 나머지 8개의 화합물은 test set로서 각 모델들의 예측성을 평가하는데 이용하였다.⁹⁾

분자 모델링과 통계(partial least square, PLS) 분석은 Sybyl (Ver. 6.91) 프로그램(Tripos Inc.)을 사용하여 수행하였다. 기질 분자의 공통 부분인 기본 골격(template)으로(Fig. 1) O-phenyl 고리에 X = A-C 치환기와 C-phenyl 고리에 R-치환기들이 치환

*연락처

Phone: 82-42-821-6737, Fax: 82-42-825-3306
E-mail: ndsung@cnu.ac.kr

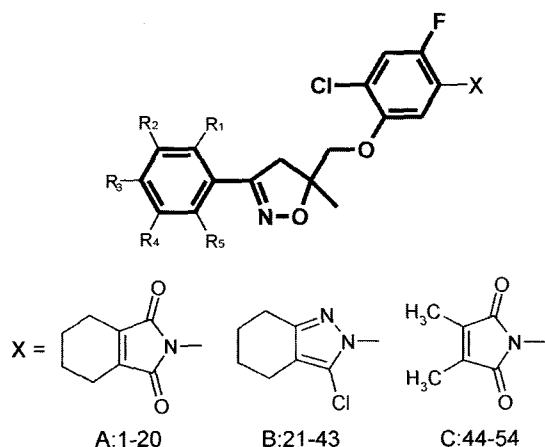


Fig. 1. Compound used as template for molecular alignment showing: in bold face is shown the reference atoms used in multifit alignment protocol of the SYBYL program.

된 가장 안정한 분자의 형태를 simulated annealing 방법으로¹³⁾ standard Tripos force field에서 Gasteiger-Huckel charge를 사용하여 가장 낮은 최소화 에너지를 갖는 안정한 분자의 형태 (conformer)를 탐색하였다. 그리고 template 분자의 에너지가 최소화된 가장 안정한 형태에 R 및 X-치환기가 치환된 기질 분자들을 atom based fit 방법으로¹⁴⁾ 3차원 공간상에 중첩시켜서 정렬하였다.

CoMSIA장과 설명인자의 계산. CoMSIA장을 계산하기 위하여 CoMFA 조건에서와 같이,⁸⁾ 3차원 공간상에 정렬된 각 분자들을 18×20×22 규격의 3차원 입방격자 공간상에 space grid를 1.0~3.0Å 범위내에 probe atom으로 탄소원자(sp³ 혼성 및 +1 전하)를 규칙적으로 배열한다. 입체장(S), 정전기장(E), 소수성장(H) 뿐만 아니라, 수소결합 받게장(A) 및 수소결합 주게장(D)이 추가된, 5개의 CoMSIA장과 attenuation factor(α)와 1Å 반경의 소수성 +1, 수소결합 주게 +1 및 수소결합 받게 +1의 probe atom과 기질분자 사이의 격자 교차점에서 유사성 지수를 계산하였다. 유사성을 결정하기 위하여는 분자들의 원자와 격자원자 간 상호간 거리가 고려되어야 하며 분자 유사성 지수들은 다음 식에 의하여 계산된다. 여기에서 i는 분자 j의 모든 원자들의 지수합이고 W_{ik}는 원자, i의 물리-화학적 성질의 실질적인 값이고 W_{probe,k}는 격자 원자이다. 그리고 분자의 원자, i와 grid point, q에서 격자원자 사이의 거리는 r_{iq}이고 α는 attenuation factor이다.¹¹⁾

$$A_{F,K}^q(j) = - \sum_{i=1}^n W_{probe,k} W_{ik} e^{-\alpha v^2 \cdot r_{iq}}$$

이와 같은 CoMSIA 분석을 통하여 얻은 모델로부터 α값을 0.1~0.9까지 변화시키면서 그에 따른 모델들의 q²값에 대한 변화를 알아보았다. 기질분자의 최소화 에너지 그리고 부가적 설명인자로서 LUMO(lowest occupied molecular orbital) 및 HOMO(highest occupied molecular orbital) 에너지(e.v.) 등, MO 함수의 계산은 MOPAC¹⁵⁾(QCPE)중¹⁶⁾ 반경험적 분자궤도(semiempirical molecular orbital) 계산 방법인 AM1 방법으로¹⁷⁾

계산하여 사용하였다. 그리고 분자극성 표면적(Å²), 쌍극자 능률(DM: dipole moment, Debye)¹⁸⁾ 및 몰라 굴절율(MR: molar refractivity, cm³/mol)¹⁹⁾ 등은 Sybyl (Ver. 6.91) 프로그램(Tripos Inc.)으로²⁰⁾ 계산하여 사용하였다.

CoMSIA-PLS 분석. 최종 CoMSIA 모델을 유도하기 위하여 3차원 공간상에 정렬된 화합물들의 3D-구조적 특징과 생물 활성간의 상관성을 부분 최소자승(PLS) 법으로 계산하였다.²¹⁾ 먼저, 최적의 주 성분 수를 결정하기 위하여 LOO(leave-one-out) cross-validated(cv)과정²²⁾을 실행하여 q²값(r²_{cv})을 얻었다. 그런 다음에 얻어진 주 성분 수를 사용하여 non-cross-validation(ncv)시켜 r²_{ncv}값을 구하고 CoMSIA 결과를 분석하는데 활용하였다.²³⁾ 유도된 모델들을 확인하기 위하여 training set으로부터 유도된 모델들을 사용하여 test set 중 분자들의 살초활성을 예측하였다. 따라서 모델의 적합성은 r²_{ncv}=0.90 이상, 그리고 예측성은 q²=0.5 이상의 값이 얻어졌을 경우에 유도된 모델들이 안정성과 합리적인 예측성을 갖는 것으로 판단한다. 그리고 PRESS(predictive residual sum of squares)값은 cross-validation 결과로서 squared prediction errors의 합으로 test set 분자의 관측값과 예측값 간 제곱 편차의 합이다.

등고도와 활성의 예측. 유도된 4개의 CoMSIA 모델들에 포함된 정보들을 graphic analyses하기 위하여 제일 큰 살초 활성(논피 뿌리: obs.pI₅₀=5.06)을 나타낸 2-fluoro 치환체(22)에 대하여 등고도를 나타내었다. 또한, CoMSIA 모델들의 예측성을 확인하기 위하여 test set 분자들(Table 4)을 대상으로 살초 활성을 예측하였다. 높은 활성 화합물의 예측은 유도된 CoMSIA 모델로 optimizing QSAR(Method: Random, Cycle: 100 및 Best: 10)을 실시하여²⁰⁾ 탐색하였다. 그러므로 X-치환기로서 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl을 고정하고 C-phenyl 고리상 비(R=H) 치환기를 기준으로 309개의 치환기들을 각각 다양하게 치환시킨 치환체들에 대하여 예측을 실시하였다.

결과 및 고찰

기질분자에 대한 CoMSIA장의 특징. CoMFA에서와 같이 atom based fit 정렬 조건에서⁸⁾ grid 변화와 주성분 수에 따른 살초 활성값(obs.pI₅₀)은 종속항 그리고 입체장(S), 정전기장(E), 소수성장(H), 수소결합 주게장(D) 및 수소결합 받게장(A) 등을 위치하여 분자극성 표면적, LUMO, HOMO 분자 궤도장(molecular orbital field),²⁴⁾ 쌍극자 능률(DM) 및 몰라 굴절율(MR) 등, 부가적 설명인자들은 독립항으로 사용하여 PLS 계산을 실시하였다. 이때, 수소결합 주게장에서는 통계치가 불량하여 이외의 CoMSIA장만을 조합하여 두 종류의 뿌리에서 더 좋은 모델을 유도할 수 있었다.

수소결합 주게장에서 적절한 통계치를 얻을 수 없는 이유는 구조상 기질분자가 acidic proton을 가지고 있지 않기 때문에 수용체 중 작용기의 헤테로 원자와 B-형의 H-결합성을 가질 수 없는 반면에 기질분자는 N 및 O 등, 헤테로 원자를 다수 포함하므로 이들 헤테로 원자의 전자 공여에 의하여 수용체 중 작용기의 수소원자들 사이에 A-형의 H-결합성²⁵⁾ 즉, 수소결합 받게장만을 나타내기 때문으로 설명된다. 그리고 부가적 설명인

Table 1. Results of the CoMSIA analyses for rice plant (ORY) of several different field combinations

Parts	Grid	Fields	Statistical values					Contribution field			
			F ^{a)}	r ² _{cv.} ^{b)}	CN ^{c)}	r ² _{ncv.} ^{d)}	SEE ^{e)}	S	E	H	A
Shoot	1.0	S	55.874	0.781	5	0.875	0.115	1.000	-	-	-
	2.5	S+E	32.057	0.526	5	0.800	0.145	0.005	0.995	-	-
	2.0	S+H ^{f)}	56.432	0.807	5	0.876	0.114	0.207	-	0.793	-
	3.0	S+A	37.844	0.732	5	0.825	0.135	0.945	-	-	0.055
	2.5	S+E+H	26.625	0.560	5	0.769	0.156	0.005	0.760	0.235	-
	2.5	S+E+A	20.715	0.472	5	0.721	0.171	0.022	0.635	-	0.343
	2.5	S+H+A	39.624	0.701	5	0.832	0.133	0.384	-	0.611	0.005
	2.5	S+E+H+A	21.366	0.484	5	0.728	0.169	0.002	0.738	0.029	0.231
Root	1.0	S	41.929	0.674	4	0.804	0.091	1.000	-	-	-
	2.5	S+E	32.425	0.522	5	0.802	0.093	0.001	0.999	-	-
	2.0	S+H	27.102	0.621	5	0.772	0.099	0.220	-	0.780	-
	3.0	S+A	38.849	0.696	5	0.833	0.085	0.931	-	-	0.069
	2.0	S+E+H	36.468	0.559	5	0.820	0.088	0.008	0.858	0.134	-
	1.0	S+E+A	25.019	0.475	5	0.758	0.102	0.006	0.814	-	0.180
	1.0	S+H+A	23.777	0.441	5	0.748	0.104	0.212	-	0.483	0.305
	1.0	S+E+H+A	31.776	0.509	5	0.799	0.093	0.009	0.620	0.242	0.129
3.0	S+LUMO ^{g)}	47.924	0.765	5	0.857	0.079	0.897	-	-	0.103 ^{h)}	

Abbreviation: Field: S = steric, E = electrostatic, H = hydrophobic, A = hydrogen bond acceptor, ^{a)}Calculated F value, ^{b)}predictive coefficient, ^{c)}number of component, ^{d)}correlation coefficient, ^{e)}standard error estimate, ^{f)}the best model, ^{g)}LUMO.

Table 2. Results of the CoMSIA analyses for barnyardgrass (ECH) of several different field combinations

Parts	Grid	Fields	Statistical values					Contribution field			
			F ^{a)}	r ² _{cv.} ^{b)}	CN ^{c)}	r ² _{ncv.} ^{d)}	SEE ^{e)}	S	H	E	A
Shoot	1.0	S	78.457	0.828	5	0.907	0.089	1.000	-	-	-
	3.0	S+E	96.169	0.776	5	0.923	0.081	0.001	-	0.999	-
	2.0	S+H ^{f)}	91.755	0.871	5	0.920	0.083	0.157	0.843	-	-
	3.0	S+A	42.486	0.778	5	0.842	0.116	0.990	-	-	0.010
	3.0	S+E+H	88.099	0.859	5	0.917	0.084	0.003	0.157	0.840	-
	2.5	S+E+A	64.460	0.782	5	0.890	0.097	0.002	-	0.768	0.230
	2.5	S+H+A	77.700	0.848	5	0.907	0.089	0.219	0.755	-	0.026
	2.5	S+E+H+A	87.655	0.855	5	0.916	0.085	0.004	0.042	0.811	0.143
Root	1.0	S	75.112	0.824	5	0.904	0.097	1.000	-	-	-
	2.0	S+E	135.875	0.837	5	0.944	0.074	0.008	-	0.992	-
	2.0	S+H	99.883	0.878	5	0.926	0.086	0.130	0.870	-	-
	3.0	S+A	54.047	0.781	5	0.871	0.113	0.997	-	-	0.003
	1.0	S+E+H	101.082	0.871	5	0.927	0.085	0.005	0.140	0.855	-
	1.0	S+E+A	86.250	0.824	5	0.915	0.091	0.028	-	0.873	0.099
	2.5	S+H+A	95.574	0.875	5	0.923	0.087	0.176	0.790	-	0.034
	1.0	S+E+H+A	103.529	0.849	5	0.928	0.084	0.019	0.269	0.643	0.069
3.0	S+H+DM+MR ^{g)}	116.425	0.913	5	0.936	0.080	0.054	0.680	0.104 ^{h)}	0.162 ^{h)}	

Abbreviation: Field: S=steric, E=electrostatic, H=hydrophobic, A=hydrogen bond acceptor. ^{a)}calculated F value, ^{b)}predictive coefficient, ^{c)}number of component, ^{d)}correlation coefficient, ^{e)}standard error estimate, ^{f)}the best model, ^{g)}DM=dipole moment, ^{h)}MR=molar refractivity.

자로서 분자극성 표면적과 HOMO 분자 궤도장의 경우에는 통계치를 개선하는데 기여하지 않은 반면에 LUMO 분자 궤도장, 쌍극자 능률(DM) 및 몰라 굴절율(MR) 등, 부가적 설명인자들의 기여 비율은 10~16% 로 비교적 낮은 편이었다.

두 초종에 대한 CoMSIA 모델. CoMSIA장들의 조합과 grid 1.0~3.0Å에서 벼 줄기와 뿌리의 살초활성⁹⁾에 대한 CoMSIA 모델을 탐색하여 Table 1에 정리하였다. 줄기에 대한 모델은 grid 2.0Å의 S+H장으로 조합된 조건에서 유도된 모델이 cross-

validated r²_{cv.}(또는 q²) 값이 0.807 그리고 non cross-validated r²_{ncv.} 값이 0.876으로 상대적인 기여 비율은 입체장이 20.7% 그리고 소수성이 79.3%로 제일 양호하였다. 그리고 뿌리에 대한 모델은 grid 3.0Å의 입체(S)장과 LUMO 분자 궤도장이 조합된 조건에서 유도된 모델은 cross-validated r²_{cv.}(또는 q²) 값이 0.765 그리고 non cross-validated r²_{ncv.} 값이 0.857으로 상대적인 기여 비율은 입체장이 89.7%, 수소결합 받개(A)장이 10.3%로 제일 양호하였다. 여기에서 LUMO 에너지는 분자가 전자쌍 받

Table 3. 3D-QSAR analyses results of the four best models using CoMSIA-PLS

Statistics & Relative contribution	Rice plant		Barnyardgrass	
	shoot	root	shoot	root
No. training compounds.	46	46	46	46
Grid spacing (Å)	2.0	3.0	2.0	3.0
Component number	5	5	5	5
Attenuation factor (α)	0.3	0.3	0.3	0.3
cross-validated r^2_{cv} (q^2)	0.807	0.765	0.871	0.913
non-cross-validated r^2_{ncv}	0.876	0.857	0.920	0.936
Standard error	0.114	0.079	0.083	0.080
F value ^{a)}	56.432	47.924	91.755	116.425
PRESS ^{b)}	0.513	0.293	0.273	0.255
A residual training set ^{c)}	0.083	0.055	0.054	0.052
A residual test set ^{d)}	0.160	0.222	0.125	0.111
Steric (S)	0.207	0.897	0.157	0.054
Hydrophobicity (H)	0.793	-	0.843	0.680
Dipole moment (DM)	-	-	-	0.104
Molar refractivity (MR)	-	-	-	0.162
LUMO	-	0.103	-	-

^{a)}Fraction of explained versus unexplained variance, ^{b)}predictive residual sum of squares of the training set, ^{c)}average residual of training set, ^{d)}average residual of test set.

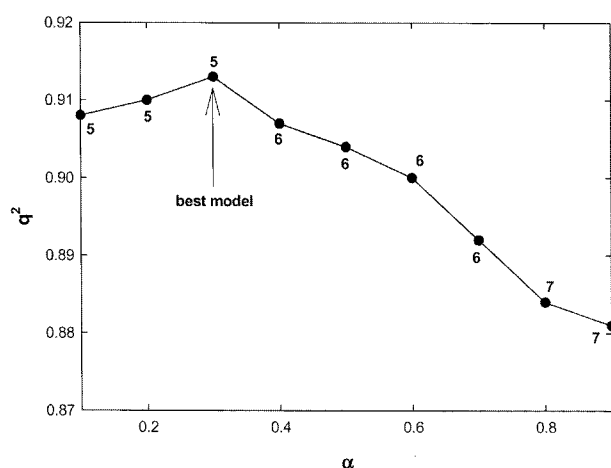


Fig. 2. Variation of q^2 upon changing the attenuation factor (Å) used in the distance dependence between the probe atom and the atoms of the molecules in CoMSIA model of barnyardgrass (ECH) root. (The number on top & bottom of the point indicates the optimum number of components).

계인 Lewis acid로 작용하는 친전자성(electrophilicity)의 척도로서 LUMO 분자 궤도장이 10.3%의 기여 비율을 나타낸다는 사실은 살초 활성이 기질 분자의 전자 친화력에 의존적이므로 기질 분자 중 양하전을 띄는 부분이 반응점일 것임을 예상할 수 있다.

한편, 논피 줄기와 뿌리도 벼의 경우와 같이 탐색된 살초활성⁹⁾에 대한 CoMSIA 모델을 Table 2에 각각 정리하였다. 이들 모델들은 grid 2~3Å과 기질분자의 원자들과 probe atom 사이의 거리를 의미하는 $\alpha=0.3$ 그리고 주성분 수, 5에서 각각 유도되었다. 논피의 줄기에 대한 모델은 grid 2.0Å의 S+H장으로 조합된 조건에서 cross-validated r^2_{cv} (또는 q^2) 값이 0.871 그리고 non cross-validated r^2_{ncv} 값이 0.920으로 상대적인 기여 비

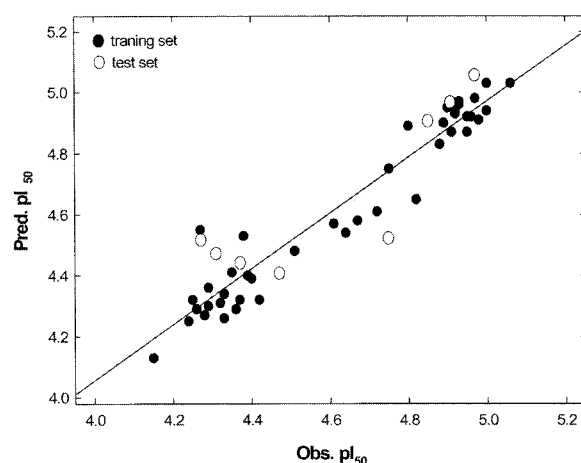


Fig. 3. Relationship between observed values (Obs.) and prediction values (Pred.) by CoMSIA model for the herbicidal activities against root of barnyardgrass (ECH): $\text{Pred. pI}_{50} = 0.915(\text{Obs. pI}_{50}) + 0.395$, $n = 54$, $s = 0.085$, $F = 530.765$ & $r^2 = 0.910$.

율은 입체장이 15.7%, 소수성이 84.3%로 제일 양호하였다. 그리고 뿌리에 대한 모델은 grid 3.0Å의 S+H장 그리고 부가 설명인자로 쌍극자 능률(DM)과 몰라 굴절율(MR) 등이 조합된 조건에서 유도된 모델이 cross-validated r^2_{cv} (또는 q^2) 값이 0.913 그리고 non cross-validated r^2_{ncv} 값이 0.936으로 상대적인 기여 비율은 입체장 5.4%, 소수성장 68%, DM 10.4% 및 MR 16.2% 이었다. 이 모델의 경우, attenuation factor(α)와 q^2 (또는 r^2_{cv})와의 관계(Fig. 2)로부터 $\alpha=0.3$ 일때 q^2 값이 가장 높았으며 그 조건에서 주성분 수는 5이었다.

이상과 같은 탐색 과정을 거쳐 선택된 가장 양호한 CoMSIA 모델들을 Table 3에 요약하였다. 그 결과, 두 초종의 부위별로 관측값과 유도된 모델에 의한 예측값 사이의 차(Dev.)에 대한 평균값이 0.03~0.04로 관측값과 예측값 사이에 좋은 일치를 보

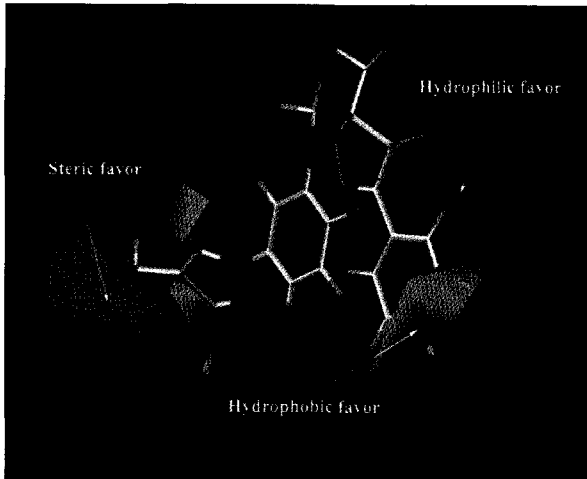


Fig. 4. CoMSIA steric, hydrophobic and hydrophilic contour plots from atom based alignment. 2-Fluoro substituent (22) is shown in capped sticks.: the herbicidal activity against shoot of rice plant (ORY).

였으므로 유도된 CoMSIA 모델들이 매우 양호함을 시사하고 있다. 한 예로, 논피 뿌리의 살초 활성에 대한 관측값과 예측값 사이의 관계($\text{Pred.pl}_{50} = 0.915(\text{Obs.pl}_{50}) + 0.395$, $s = 0.085$, $F = 530.765$ 및 $r^2 = 0.910$)를 Fig. 3에 나타내었다. Training set 와 test set 중의 모든 화합물들이 좋은 직선성의 관계를 나타내므로 모델의 적합성과 예측성이 매우 양호함을 보여주고 있다. 좋은 모델로 선택된 두 종류의 부위 별, 모델들의 예측성 척도(predictability)는 $r^2_{\text{cv}}(q^2) = \text{논피} : \text{뿌리} > \text{줄기} > \text{벼} : \text{줄기} > \text{뿌리}$ 그리고 모델의 적합성은 $r^2_{\text{cv}} = \text{논피} : \text{뿌리} > \text{줄기} > \text{벼} : \text{줄기} > \text{뿌리}$ 의 순으로 높았으므로 논피가 벼에 대한 경우보다 좋은 (논피 > 벼) 모델이었다.

Protox 저해활성에 관한 등고도. 기질분자 중에서 활성이 제일 큰 B-치환된 2-fluoro 치환체(22)의 형태상에 atom based fit 방식으로 분자들을 정렬하여 Fig. 4에는 벼의 줄기 그리고 Fig. 5에는 논피의 줄기에 대한 등고도(contour map)를 각각 나타내었다. 지시하는 색상에 따라 푸른색(blue)은 소수성 증가를 그리고 녹색(green)은 steric bulky한 입체성이 증가 할수록 활성이 증가함을 의미하며 보라색(violet)은 친수성 정도가 클수록 활성의 증가를 또한, 노란색(yellow)은 steric bulky한 입체성이 클수록 활성이 감소되는 기질분자의 성질들을 각각 의미한다.

벼 줄기의 살초 활성에 관한 입체장, 소수성장 및 친수성장 등, CoMSIA장에 대한 등고도를 Fig. 4에 나타내었다. 분자의 왼편 O-phenyl 고리상 X-치환기로서 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 치환기의 bicyclic 부분은 steric bulky 할수록(green) 그리고 B-치환기내 두 고리의 경계면 상 부분은 소수성이 클수록 활성이 증가할 것이다. 또한, 분자 오른쪽 C-phenyl 고리상 ortho, meta 및 para-위치에는 친수성 그리고 meta 및 para-위치의 benzene 고리상 안쪽 부분은 소수성이 크고 바깥쪽으로는 친수성이 큰 치환기가 도입되었을 경우에 활성이 증가할것으로 예상된다.

한편, 논피 줄기의 살초 활성에 관한 입체장, 소수성장 및 친수성장 등, CoMSIA 장에 대한 등고도를 Fig. 5에 나타내었다.

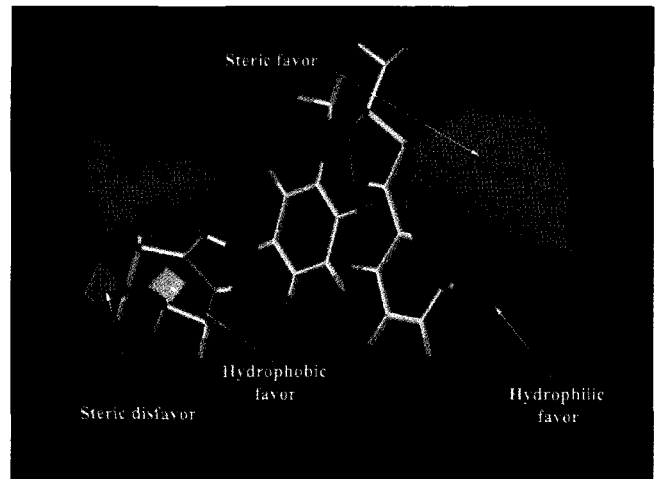


Fig. 5. CoMSIA steric, hydrophobic and hydrophilic contour plots from atom based alignment. 2-Fluoro substituent (22) is shown in capped sticks.: the herbicidal activity against shoot of barnyard grass (ECH).

분자의 왼편 O-phenyl 고리상 X-치환기로서 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 치환기의 3-chloro group 부분은 steric bulky 할수록 그리고 indazol group의 C5원자 부분은 입체적으로 작고(yellow) 친수성일수록(violet) 또한, C6 원자 부분은 소수성이 큰 작은 치환기가 올수록(blue) 활성이 증가할것으로 예상된다. 분자 오른쪽 부분의 isoxazolin 고리상 C4 원자 부분과 C-phenyl 고리상 부분의 넓은 영역에 큰 steric bulky한 치환기(green) 그리고 meta 및 para-위치에 분리된 친수성이 클수록(violet) 활성이 증가할것으로 예상되었다.

이와 같은 두 종류의 줄기에 대한 등고도 분석결과, 논피에 대한 선택적인 살초활성은 C-phenyl 고리상 ortho-위치가 steric bulky 할수록 클 것으로 예상된다. 따라서 논피 줄기에 대하여 나타내는 선택성은 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino 고리에 의하여 그리고 활성의 증가는 C-phenyl 고리상 R-치환기에 의한 것이라는 HQSAR 분석결과⁹⁾와 R-치환기보다 X-치환기로서 pyrazole 구조가 논피에 대한 선택성을 발현한다는 CoMFA 결과⁹⁾들과 유사한 경향을 나타내었다.

CoMSIA 모델의 예측성. 유도된 모델들의 예측성을 검토하기 위하여 두 종류의 부위별 test set에 대한 관측값, 예측값 및 그 차이값을 Table 4에 정리하였다. 두 종류의 부위별로 오차의 평균값(test ave.)이 0.11~0.22로 관측값과 예측값 사이에 좋은 일치를 보였으므로(Fig. 3) 유도된 모델들은 예측성이 양호한 모델이었다. 따라서 기질분자의 살초활성에 미치는 요소로는 구조상 수소결합 받게장(A)을 위시하여 소수성(hydrophobic)장 및 친수성(hydrophilic)장 등은 주로 C-phenyl 고리상 meta 및 para-치환기 부근에 형성되어 선택성에 영향을 미치고 있음을 알았다. 그러므로 방제 대상인 논피에 대하여 높은 살초활성을 나타내는 반면에 벼에는 낮은 활성을 보이는 선택성 화합물을 탐색하기 위하여 O-phenyl 고리상 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl-치환체를 고정하고 C-phenyl 고리상 309 개의 R-치환기에 대한 optimizing QSAR을 실시하여²⁰⁾ 그 결과를 Table 5에 정리하였다. 가장 높은 활성이 예상되는 화합물

Table 4. Predicted values of the test set compounds by the four CoMSIA models

No.	ORY (shoot)			No.	ORY (root)			No.	ECH (shoot)			No.	ECH (root)		
	Obs.	Prd. ^{a)}	Dev. ^{b)}		Obs.	Prd. ^{a)}	Dev. ^{b)}		Obs.	Prd. ^{a)}	Dev. ^{b)}		Obs.	Prd. ^{a)}	Dev. ^{b)}
03	4.19	4.10	0.09	16	4.48	4.40	0.08	12	4.46	4.33	0.13	02	4.37	4.44	-0.07
08	4.07	3.96	0.11	17	4.44	4.49	-0.05	13	4.19	4.26	-0.07v	12	4.47	4.41	0.06
19	3.85	4.10	-0.25	20	4.68	4.48	0.20	16	4.40	4.31	0.09	25	4.93	4.97	-0.04
22	4.69	4.53	0.16	25	4.57	4.79	-0.22	24	4.83	4.95	-0.12	27	5.00	5.03	-0.03
25	4.30	4.56	-0.26	47	4.78	4.76	0.02	35	4.78	4.98	-0.20	33	4.90	4.95	-0.05
33	4.57	4.48	0.09	49	4.39	4.77	-0.38	37	4.91	4.89	0.02	46	4.27	4.52	-0.25
35	4.43	4.70	-0.27	52	4.92	4.52	0.40	50	4.36	4.69	-0.33	47	4.75	4.52	0.23
51	4.90	4.85	0.05	54	4.22	4.65	-0.43	51	4.66	4.70	-0.04	50	4.31	4.47	-0.16
Ave. ^{c)}			0.16				0.22				0.12				0.11

Abbreviation: ORY: rice plant, ECH: barnyardgrass., ^{a)}Predicted value, ^{b)}difference of observed values and predicted values., ^{c)}average residual of test set.

Table 5. Predicted herbicidal activities (pI_{50}) of unknown B series substituents using four the CoMSIA models for shoot and root of rice plant and barnyardgrass

Sub. (R)	Shoot		Sub. (R)	Root	
	ORY ^{a)}	ECH ^{b)}		ORY ^{a)}	ECH ^{b)}
2-SiCH ₃ , 6-CH ₂ CH ₂ Ph	4.72	5.27	2-N(CF ₃) ₂ , 6-CHF ₂	4.49	5.13
2-SCCl ₃ , 6-SO ₂ CF ₃	4.73	5.25	2-N(CF ₃) ₂	4.39	5.12
2-SO ₂ CF ₃ , 6-CH ₂ CH ₂ CH ₃	4.75	5.21	2-SiCH ₃ , 4-NHNH ₂	4.18	5.12
2-SiCH ₃	4.65	5.20	2-SiCH ₃	4.36	5.09

^{a)}Rice plant (*Oryza sativa* L.), ^{b)}barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*).

은 R = 2-CH₃Si- 및 6-phCH₂CH₂-기로서 (pI_{50} = 벼: 4.72 및 논피: 5.27) 벼 보다는 논피에 대하여 다소 높은 활성을 보였다. 그러나 제일 큰 살초활성(논피 뿌리: obs. pI_{50} = 5.06)⁹⁾을 나타낸 R = 2-fluoro 치환체(22)에 비하여 크게 개선된 화합물을 찾기가 어려웠다.

이상과 같은 일련의 3D-QSAR 분석 결과로부터 살초활성이 크게 향상된 화합물이 탐색되지 않는것은 이들 방법의 속성상 외삽(extrapolation)에 의한 예측이 불가능하기 때문이다.²⁶⁾ 그러므로 논피에 대한 선택적인 살초활성은 외삽이 가능한 classical QSAR 분석결과와 병행하여 CoMFA, CoMSIA 및 HQSAR 기여도로부터 고활성 분자의 조건을 구비한 분자설계(molecular design)를 통하여 개선될 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 지원 연구비(No. R11-2002-100-03002-2)에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Boger, P and Wakabayashi, K. (1999) *Peroxidizing Herbicides*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Fujita, T. (2002) In *Agrochemical Discovery, Insect, Weed, and Fungal control: Similarities in bioanalogous structural transformation patterns*, Ch. 15, Baker, D. R. and Umetsu, N. K. (eds.), ACS Symposium Series No. 774, American Chemical Society, Washington, DC.
- Pallett, K. E. (1997) *Herbicide target sites, recent trends and new challenges*. Proceeding of Brighton Crop Protection Conference-Weeds, pp. 575-578.
- Uraguchi, R., Sato, Y., Nakayama, A., Sukekawa, M., Iwataki, I., Boger, P. and Wakabayashi, K. (1997) Molecular shape similarity of cyclic imides and protoporphyrinogen IX. *J. Pestic. Sci.* **22**, 314-320.
- Theodoridis, G., Bahr, J. T., Hotzman, F. W., Sehgel, S. and Suarez, D. P. (2000) New generation of protox-inhibiting herbicides, *Crop Prot.* **19**, 533-535.
- Sung, N. D., Ock, H. S., Chung, H. J., Song, J. H. and Lee, Y. G. (2003) Comparatives molecular field analyses (CoMFA) on the growth inhibition activity of *N*-phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide and *N*-phenyl-3,4-dimethylmaleimide derivatives. *Kor. J. Pest. Sci.* **7(2)**, 75-82.
- Sung, N. D., Ock, H. S., Chung, H. J. and Song, J. H. (2003) Quantitative structure-activity relationships and molecular shape similarity of the herbicidal *N*-substituted phenyl-3,4-dimethylmaleimide derivatives, *Kor. J. Pest. Sci.* **7(2)**, 100-107.
- Sung, N. D., Song, J. H., Yang, S. Y. and Park, K. Y. (2004) Understanding the herbicidal activity of novel 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives as protox inhibitors using comparatives molecular field analyses (CoMFA) methodology, *Kor. J. Pest. Sci.* **8(3)**, 151-161.
- Sung, N. D., Song, J. H. and Park, K. Y. (2004) Understanding the herbicidal activity of novel 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives as protox inhibitors using holographic quantitative structure-activity relationship (HQSAR) methodology, *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **47(3)**, 351-356.
- Kubinyi, H. (1993) 3D QSAR Drug Design, Theory, Methods

- and Applications, ESCOM. Leiden.
11. Klebe, G. and Abraham, U. (1999) Comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) to study hydrogen-bonding properties and to score combinatorial libraries. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **13**, 1-10.
 12. Ryu, E. K., Jeon, D. J., Song, J. H. and Kim, H. R. (2001) Herbicidal 2-(5-isoxa-zolinylmethoxyphenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole derivatives. Korean Pat. 0289470.
 13. Kerr, R. *et al.*, (1994) Parallel helix bundles and ion channels: molecular modeling via simulated annealing and restrained molecular dynamics. *Biophys. J.* **67**, 1501-1515.
 14. Marshall, G. R., Barry, C. D., Bosshard, H. E., Dammkoehler, R. A. and Dunn, D. A. (1979) In Computer-assisted drug design: The conformational parameter in drug design; active analog approach. Olsen, E. C. and Christoffersen, R. E. (eds.), American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 205-226.
 15. Stewart, J. J. (1990) MOPAC: A semiempirical molecular orbital program. *J. Comp.-Aided Mol. Design.* **4**, 1-105.
 16. QCPE; *Quantum Chemistry Program Exchange*, Creative Arts Building 181, Indiana Univ., Bloomington, Indiana 47405, U.S.A.
 17. Dewar, M. J. S., Zoebish, E. G., Healy, E. F. and Stewart, J. J. P. (1985) AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 3902-3909.
 18. Lien, E. J., Guo, Z. R., Li, R. L. and Su, C. T. (1982) Use of dipole moment as parameter in drug receptor; Interaction and quantitative structure activity relationship studies. *J. Pharm.* **71**, 641-655.
 19. Bauer, N., Fajans, K. and Lewin, S. Z. (1960) *Technique of Organic Chemistry*, Vol. 1., Part II, Weissberger, A. (ed.), Interscience, New York, p. 1139.
 20. Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO 63144-2913, U.S.A., /http://www.tripos.com/Bookshelf/qsar.
 21. Stahle, L. and Wold, S. (1988) Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research. *Progr. Med. Chem.* **25**, 292-334.
 22. Cramer, R. D. III., Bunce, J. D. and Patterson, D. E. (1988) Crossvalidation, bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional JAR studies. *Quant. Struct. Act. Relat.* **7**, 18-25.
 23. Wold, S., Albano, C., Dunn, W. J., Edlund, U., Esbensen, K., Gelæ?, P., Hellberg, S., Johanasson, F., Lindberg, W. and Sjostrom, M. (1984) In *Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry Multivariate Data Analysis in Chemistry*, Kowalski, B. R. (ed.), Reidel, Dordrecht, Netherlands. pp. 12-94.
 24. Waller, C. L. and Marshall, G. R. (1993) Three-dimensional quantitative structure- activity relationship of angiotensin-converting enzyme and thermolysin inhibitors. 11. A comparison of CoMFA models incorporating molecular orbital fields and desolvation free energies based on active-analog and complementary-receptor-field alignment rules. *J. Med. Chem.* **36**, 2390-2403.
 25. Sung, N. D., (1989) Solvent dependence and component of linear free energy relationship on the chemical shift of methylene proton in 1-(phenoxyethyl)benzotriazole derivatives. *J. Kor. Chem. Soc.* **33(5)**, 538-544.
 26. Kim, K. H. (1993) In *3D QSAR Drug Design, Theory, Methos and Applications: Comparison of classical and 3D-QSAR*. Kubinyi, H. (ed.), ESCOM. Leiden, pp. 619-642.

Understanding the Prottox Inhibition Activity of Novel 1-(5-methyl-3- phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene Derivatives Using Comparative Molecular Similarity Indices Analysis (CoMSIA) Methodology

Nack-Do Sung*, Jong-Hwan Song¹ and Kyung-Yong Park (*Division of Applied Biologies and Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-784, Korea; ¹Cytosine Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusong, Daejeon 305-606, Korea*)

Abstract: 3D QSAR studies for prottox inhibition activities against root and shoot of the rice plant (*Oryza sativa* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) by a series of new 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives were conducted based on the results (Sung, N. D. *et al.*'s, (2004) J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 47(3), 351-356) using comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) methodology. Four CoMSIA models, without hydrogen bond donor field for the prottox inhibition activities against root and shoot of the two plants, were derived from the combination of several fields using steric field, hydrophobic field, hydrogen bond acceptor field, LUMO molecular orbital field, dipole moment (DM) and molar refractivity (MR) as additional descriptors. The predictabilities and fitness of CoMSIA models for prottox inhibition activities against barnyard-grass were higher than that of rice plant. The statistical results of these models showed the best predictability of the prottox inhibition activities against barnyard-grass based on the cross-validated value r_{cv}^2 ($q^2=0.635\sim0.924$), non cross-validated, conventional coefficient r_{ncv}^2 value ($r^2=0.928\sim0.977$) and PRESS value (0.255~0.273). The prottox inhibition activities exhibited a strong correlation with the steric (5.4~15.7%) and hydrophobic (68.0~84.3%) factors of the molecules. Particularly, the CoMSIA models indicated that the groups of increasing steric bulk at ortho-position on the C-phenyl ring will enhance the prottox inhibition activities against barnyard-grass and subsequently increase the selectivity.

Key words: 3D-QSAR, 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluoro- benzenes, herbicidal activity, rice plant (*Oryza sativa* L.), barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), CoMSIA mode

*Corresponding author