돼지 냄새물질 결합 단백질(pOBP 및 pPBP)에 대한 Tetrahydrofuran-2-yl 유도체의 분자도킹과 결합 상호작용

조윤기[1] · 박창식[2] · 성낙도[1,†]

[1]충남대학교 농업생명과학대학 응용생물환경화학과, [2]충남대학교 형질전환복제돼지연구센터

Molecular Docking of Tetrahydrofuran-2-yl Analogues to Porcine Odorant Binding Proteins (pOBP & pPBP) and Binding Interactions

Yun-Gi Cho[1], Chang-Sik Park[2] and Nack-Do Sung[1,†]

[1]*Department of Applied Biolog & Environmental Chemistry, Chung-Nam National University, Daejeon 305-764, Korea*

[2]*Research Center for Transgenic Cloned Pigs, Chung-Nam National University, Daejeon 305-764, Korea*

ABSTRACT

The binding affinity constants ($p(Od)_{50}$) and molecular docking scores (DS) between porcine odorant binding proteins pOBP (1HQP) and pPBP (1GM6) as receptor and a series of tetrahydrofuran-2-yl (A & B) analogues as substrate, and their interactions were discussed quantitatively using three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) models. The statistical qualities of the optimized CoMFA models for pOBP were better than those of the CoMSIA models. The binding affinity constants and DS between substrate and receptor molecules were dependent upon steric and hydrophobic interaction. The DS constants of the substrates into the binding site of OBP (1HQP) were bigger than those of PBP (1GM6). The resulting contour maps produced by the optimized CoMFA model were used to identify the structural features relevant to the binding affinity in binding site of pOBP.

(Key words : Binding affinity constants, Docking scores, pOBP (1HQP) & pPBP (1GM6), 3D-QSAR analyses models)

서 론

동물들은 동종 사이에서 번식을 위한 의사소통을 하며(Beynon 등, 2004), 페로몬을 인지함으로써 발정기 유무를 알아낼 뿐 아니라(Sankar 등, 2004), 그들의 번식과 사회적 행동에 있어서 매우 중요한 역할을 한다(Rekwo 등, 2001).

냄새 물질이나 페로몬의 인식 단백질인 odorant binding protein(pOBP)은 코 점막과 후각 수용체 신경막에 위치하며(Pelosi, 2001), pheromon binding protein(pPBP)과 pOBP는 lipocalin의 subfamily에 속한다. 이들은 구조적으로 매우 유사하고 화학적 통신에 있어서 페로몬이나 냄새 물질의 인식과 전달에 관여하는 것으로 알려져 있으며(Pelosi, 1994; 1996), pPBP는 수용성 단백질로 페로몬 분자와 결합되어 있다. 번식에 영향을 미치는 자극은 후각, 청각, 시각 및 촉감적인 요소로 이루어져 있다(Gerritsen 등, 2005). 발정기를 인지한 돼지는 촉감 자극과 함께 페로몬(5 α-androstenon)의 후각적인 자극을 통해 번식을 위하여 정자의 운반을 위한 자궁수축 활동을 돕는다(Lnagendijk 등, 2003). 돼지의 pPBP인 salivary lipocalin의 역할은 페로몬 성을 나타내는 소수성 분자들의 단순한 전달자가 아닌 복잡한 기능을 갖고 있으며, 보습코 기관의 수용체들에 대하여 생리적 및 생화학적인 활성을 갖는 것으로 추측된다(Brennan, 2001).

냄새물질과 결합하는 pOBP의 구조활성 관계에 관하여 연구된 바 있으며(Krzy-mowski 등, 1999; Vincent 등, 2000), 현재까지 돼지 냄새물질 결합 단백질(pOBP)과 결합하는 화합물로 benzophenone, benzylbenzoate, dihydromycenol, selenazol, thymol, 2-methoxy-3-(2-methylpropyl)pyrazine 및 undecanal 등이 알려졌다(Massimiliano 등, 2001). 근래, 저자들은 생물학적인 자극통제 수단으로 돼지의 발정 동기화는 물론, 번식을 조절하는데 활용하기 위하여 일련의 green odorant인 tetrahydrofurane계 기질 유도체들의 pOBP에 대한 결합친화력상수에 기초한(Dal Monte 등, 1993) 정량적인 구조와 활성관계(QSAR)를 검

* 이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2010-0001351).

† Corresponding author : Phone: +82-42-821-6737, E-mail: ndsung15@hanmail.net

토하고(성 등, 2006) 발정 유도물질을 예측하여 합성하였다(박 등, 2009).

본 연구에서는 수용체로서 돼지 냄새물질 결합 단백질(pOBP 및 pPBP)에 대한 tetrahydrofuran-2-yl계 기질 유도체의 결합 친화력 상수($p(Od)_{50}$)와 분자 docking score (이하 DS로 생략함)에 미치는 정량적인 구조와 활성관계(QSAR)(Chen 등, 2004; Yi 등, 2008)를 검토하고 주로 p-OBP (PDB code 1HQP)에 관한 기질-수용체 사이의 상호작용에 관하여 논의하였다.

재료 및 방법

결합 친화력상수와 분자도킹

pOBP(22 kDa)에 대하여 측정된 tetrahydrofuran-2-yl계 기질 화합물(A 및 B)들의 결합친화력상수($p(Od)_{50}$)는 문헌값(Dal Monte 등, 1993)을 사용하였다. 또한, 돼지 냄새분자 수용체인 pOBP는 1HQP-2-isobutyl-3-methoxypyrazine 착 화합물의 결정 구조로부터(Massimiliano 등, 2001) 반응점 PRZ160에, 그리고 pPBP는 SAL; 1GM6-glycerol 착 화합물로부터 반응점 GOL1167에 대하여(Spinelli 등, 2002) 분자도킹을 실시하였다(Gohlke 등, 2002). 각 수용체에 대한 기질 화합물들의 DS (kcal/mol)는 Surflex-Dock 프로그램(Sybyl; Ver. 8.1)으로 계산되었으며(Jain, 2003), 본 프로그램은 protomol-based 방법으로 수용체 내부에 있는 반응점을 설정한다(Quian 등, 2007). Protomol은 특정 ligand와 반응점과의 상호작용을 나타내는 Surflex-Dock의 중요한 docking algorithm factor이다(Lee 등, 2009). 또한, 기질-수용체(pOBP: 1HQP) 사이의 도킹에 큰 영향을 미친 lipophilic potential은 MOLCAD (molecular computer aided design) 프로그램 (Sybyl; Ver. 8.1)으로 실행하여 제시하였다.

물리-화학 파라미터 계산

기질-수용체의 착 화합물 형성(DS)에 미치는 기질분자들의 설명인자(물리-화학 파라미터)를 이해하기 위하여 Oxford Molecular Ltd사의 TSAR 프로그램(Ver. 3.3)을 이용하여 tetrahydrofuran-2-yl계 화합물 1개당 설명인자로서 MM(분자량; amu), MSA(분자 표면적; $Å^2$), MV(분자부피; $Å^3$), DM(쌍극자능률; μ), MR(분자굴절율; cm^3/mol), RI (Randic index), BI (Balaban index), 소수성상수(logP) 및 TL (Total lipole) 등, 9종 135개의 상수들을 계산하여 활용하였다. 이들 상수들의 구체적인 특성은 상이하나, 입체성 상수는 MM, MSA, MV, BI 및 RI 등이고, 소수성 상수로는 logP, TL이며, DM은 정전기성 상수로 분류된다. 그러나 MR 상수는 입체성(size)과 정전기성(polarizability)을 나타내는 양쪽성 상수이다.

3D-QSAR 모델의 유도

전체 기질분자(n=15)를 대상으로 결합친화력상수 및 DS에 관한 기질분자의 3차원적인 정량적 구조와 활성관계(3D-QSAR; 비교분자장분석(CoMFA)) 및 비교분자 유사성지수분석(CoMSIA)에 대한 모델(Chen 등, 2004; Yi 등, 2008)은 분자 모델링 프로그램(Sybyl; Ver. 8.1)으로 각각 유도하였으며, 조건과 방법은 대략 이전의 보고(성 등, 2006)에 따랐다. 그리고 3D-QSAR 모델 유도시, 기질 화합물은 align database 방법으로 정렬하였으며(Peng 등, 2007) Grid; 1-3Å, 조성수; 1-3 및 특성장(CoMFA; 입체장, 정전기장, 소수성장(logP) 및 CoMSIA; 입체장, 정전기장, 소수성장, H-결합주게장 및 H-결합받게장)의 조합조건에서 유도된 수 십개의 3D-QSAR 모델 중, 통계값이 가장 양호한 관계식을 최적화 모델로 선택하였다.

부분최소 자승(PLS) 계산

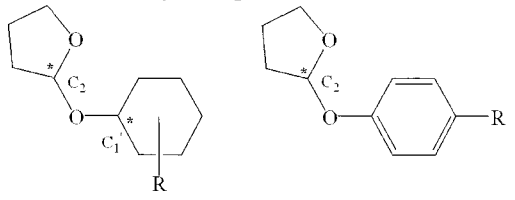
기질-수용체의 결합이나 도킹시에 기질 화합물들의 구조적 특징에 관한 3D-QSAR 특성장과 결합 친화력상수 및 DS 사이의 상관관계를 부분최소자승(PLS; partial least square) 방법으로 분석하였다(Lindber 등, 1988). 최적의 성분수를 결정하기 위하여 교차확인을 실행하고, 여기에서 얻은 성분수(CN)을 사용하여 최종적으로 비교차확인을 실시하여 최종 QSAR 모델을 유도하였다. 교차확인 결과로부터 관측값과 예측값 사이의 제곱편차의 합인 PRESS (predictive residual sum of squares) 값을 계산하여 모델의 예측성을 판단하였다. 또한, 모델의 통계값 중, n은 각 회귀분석에 사용된 화합물의 수이고, r은 상관계수, r^2는 유의성이고, q^2는 예측성, F는 상관율이며, 그리고 s는 표준편차이다. 그러므로 좋은 모델의 조건은 상관성($r^2_{ncv.}$>0.9) 및 예측성($r^2_{cv.}$>0.5)이 이들 기준값보다 높은 값이어야 한다.

결 과

결합 친화력과 DS

수용체, pOBP에 대하여 관측된 tetrahydrofuran-2-yl계 기질 화합물(A 및 B)의 결합친화력상수(*Obs*.$p[Od]_{50}$)들과 이들 사이의 관계를 잘 설명하는 최적화된 CoMFA 모델로 예측된 예측값(*Pred*.$p[Od]_{50}$) 그리고 이들 두 값의 차이값(Δ)을 Table 1에 정리하였다. 여기에서 기질분자, A의 C_1' 및 C_2 그리고 B의 C_2원자 위치는 입체 중심(chiral center)으로 C_1'(R),C_2(S)의 절대배열을 유지할 경우에 가장 양호한 통계값을 나타내었으며(성 등, 2006), 친화력상수는 분자 상호간의 비공유결합과 수소결합, 정전기적 상호작용, 소수성 및 Van der Waals 힘 등에 영향을 받는 값이다. 두 수용체(pOBP 및 pPBP)에 대한 DS(kcal/mol) 값은 Table 3에 각각 정리하였다. 지금까지 알려진 총 9개의 pOBP 중에서 가장 많이 알려진 것이 1A3Y이다. pOBP (1HQP)는 1A3Y와 다른 공간에 존재하는 것으로 최근에 연구되었을 뿐 아니라(Massimiliano 등, 2001), PBP (1GM6)처럼 1개의 subunit가 존재한다. 이런 특성으로 여기에서는 pOBP중 1HQP를 택하여 분자 도킹을 실시하였다. Surflex-Dock에서 DS는 결합친화력상수로서 K_d값에 역의 대수(-log)를 취한 것으로(pK_d) 양수이며, 절대값이 클수록 결합이 잘 이루어짐을 의미한다. 또한, scoring function은 hydrophobic, polar, repulsive, entropic, solvation 및 crash와 같은 항목들을 포함한다. 그리고 Fig. 1에는 pOBP (1HQP)에 대한 결합친화력상수(Table 1)와 DS (Table 3) 사이의 상호관계를 나타내었다.

Table 1. Observed binding affinity constants (*Obs.*p[Od]$_{50}$) of tetrahydrofuran- 2-yl analogues against pOBP and predicted constants (*Pred.*p[Od]$_{50}$) by the optimized CoMFA model



(A) (B)

No.	R (Sub.)	Obs.	Pred	Δ[a]
1	1-Methyl	5.96	5.84	0.12
2	*Cis*-2-methyl	5.78	5.85	−0.07
3	*Trans*-2-methyl	5.89	5.88	0.01
4	*Cis*-3-methyl	6.05	6.12	−0.07
5	*Trans*-3-methyl	6.29	6.17	0.12
6	*Cis*-4-methyl	6.11	6.12	−0.01
7	*Trans*-4-methyl	5.72	5.89	−0.17
8	*Cis*-4-isopropyl	4.34	4.64	−0.30
9	*Trans*-4-isopropyl	4.99	4.80	0.19
10	*Cis*-4-tert-butyl	4.61	4.58	0.03
11	*Trans*-4-tert-butyl	4.38	4.37	0.01
12	4-Methyl	5.65	5.64	0.01
13	4-Ethyl	5.29	5.23	0.06
14	4-Isopropyl	4.97	5.00	−0.03
15	4-*Tert*-butyl	4.96	4.89	0.07
	PRESS,[b] (Ave.)[c]		0.204	(0.085)

Notes: 2-cyclohexyloxytetrahydrofurane (A: 1~11), 2-phenoxytetrahydrofurane (B: 12~15), [a]difference of observed (*Obs.*p[Od]$_{50}$) values and predicted (*Pred.*p[Od]$_{50}$) values by optimized model in Table 2, [b]predictive residual sum of squares.,[c]average residual.

pOBP에 대한 QSAR 모델

Table 2에는 pOBP에 대한 기질 화합물의 결합친화력 상수에 관한 CoMFA 및 CoMSIA 모델들의 PLS 분석 결과와 특성장에 대한 기여비율(%)을 계산하여 정리하였다. CoMSIA 모델은 예측성($r^2_{cv.}$=0.343)과 상관성($r^2_{ncv.}$=0.838)이 기준값에 이르지 못하였으나 CoMFA 모델은 기준값을 상회하는 최적화된 모델이었다. 또한, Fig. 2 및 3에는 최적화된 CoMFA 모델의 결합 친화력 상수에 관련한 정보를 시각적으로 분석하기 위하여 기여비율이 높은 입체장과 소수성장에 관한 등고도를 pOBP(1HQP)의 반응점(PRZ160)에 도킹된 모습으로 나타내었고, 기여비율이 가장 낮은 정전기장에 관한 등고도는 제외하였다. 등고도(contour map)는 가장 큰 결합친화력상수(*Obs.*p[Od]$_{50}$= 6.96)를 나타낸 화합물(10)의 구조상에 표시하였고, 3D-QSAR 특성장의 favor: disfavor의 비율(%)은 각각 80:20 이었다.

DS에 대한 QSAR 모델

두 수용체(pOBP 및 pPBP)에 대한 기질 화합물들의 도킹으로 계산된 DS값들과 최적화된 CoMFA 모델들로 예측된(Pred.) DS값 그리고 이들 두 값의 차이값(ΔDS)을 Table 3에 정리하였다. pOBP의 경우, 차이값(Δ)의 PRESS; 0.426, 평균값(Ave.); 0.130 그리고 pPBP의 경우에 차

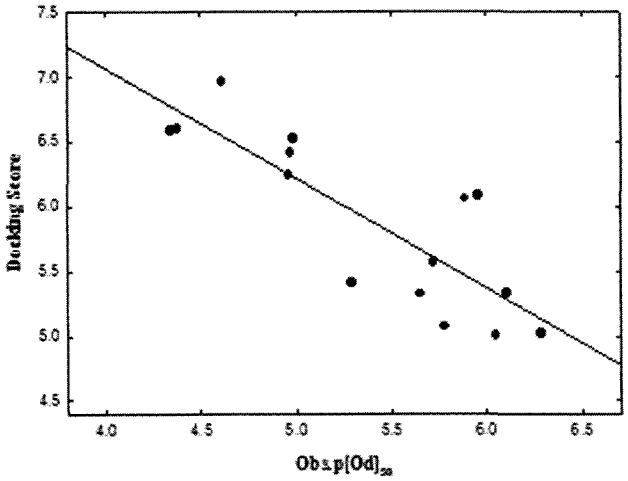


Fig. 1. Relationships between observed binding affinity constants (*Obs.*p[Od]$_{50}$) to pOBP and calculated DS to pOBP(1HQP). DS= −0.844 *Obs.*p[Od]$_{50}$+10.435, n=15, s=0.388, F=28.133, r^2=0.684 & q^2= 0.608.

Table 2. Summary of contribution ratio and statistical parameters of 3D-QSAR models for binding affinity constants

Receptors	Models	Contribution ratio (%)				PLS Analyses					
		S	E	Hy	HA	Grid(Å)	NC	$r^2_{cv.}$[a]	$r^2_{ncv.}$[b]	$SE_{ncv.}$[c]	F[d]
OBP	CoMFA[e]	44.7	12.9	42.5	-	2.0	2	0.856	0.969	0.124	185.499
	CoMSIA	-	45.1	54.9	-	1.5	2	0.343	0.838	0.282	30.958

Notes: Alignment; using the "align database" option of Sybyl., S; steric field, E; electrostatic field, Hy; hydrophobic field, HA; H-bond acceptor field., NC; number of component, [a]cross-validated r^2, [b]non-cross-validated r^2, [c]standard error estimate, [d]fraction of explained versus unexplained variance, [e]optimized model.

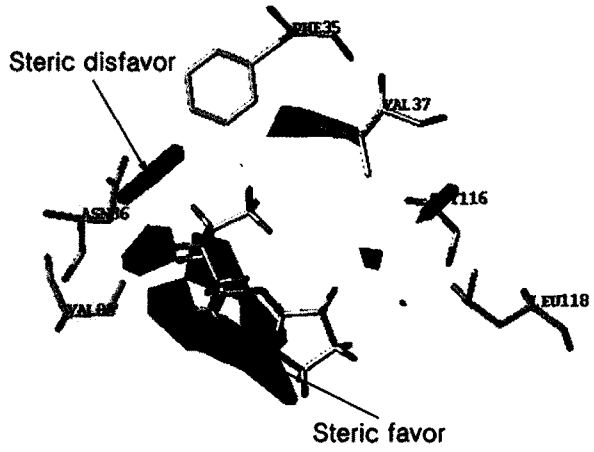


Fig. 2. The steric contour maps of the optimized CoMFA model displayed with compound 5 and the key amino acid residues in the binding site (PRZ160) of pOBP (1HQP). Favor: 80% & disfavor: 20%.

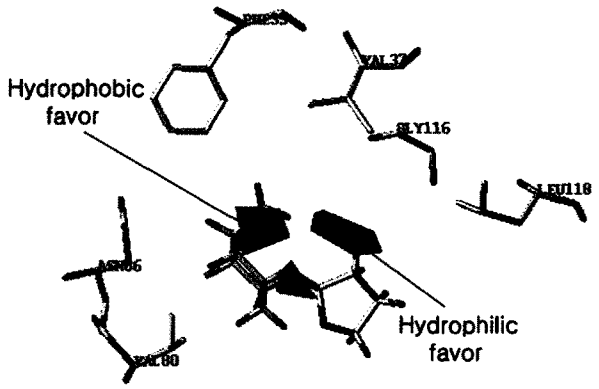


Fig. 3. CoMFA-HINT contour maps of the CoMFA model displayed with compound 5 and the key amino acid residues in the binding site (PRZ160) of pOBP (1HQP). Hydrophobic favor: 80% & hydrophilic favor: 20%.

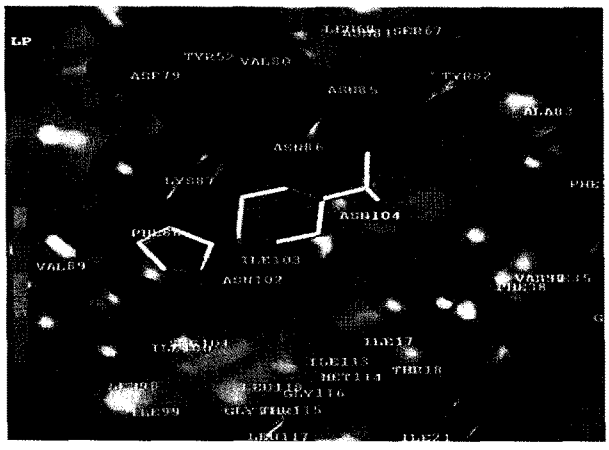


Fig. 4. Pose of the highest docking scored (DS: 6.96) compound (10) in binding site (PRZ160) of pOBP (1HQP). This picture was generated with the MOLCAD program in SYBYL 8.1, with some residues removed for clear visualization. The pOBP surface was rendered with lipophilic potential.

이값의 PRESS; 1.912, 평균값(Ave.); 0.282이었다. 그러므로 DS를 설명하는 pOBP에 대한 CoMFA 모델($r^2_{ncv.}$=0.930 및 $r^2_{cv.}$=0.584)이 pPBP에 대한 CoMFA 모델($r^2_{ncv.}$=0.963 및 $r^2_{cv.}$=0.796)보다 오차가 적고 예측성이 양호한 최적화된 모델이었다. 그리고 Table 4에는 두 수용체에 대한 기질 화합물의 DS에 관한 CoMFA 및 CoMSIA 모델들의 PLS 분석 결과 및 특성장에 대한 기여비율(%)을 계산하여 각각 정리하였다. 또한, Fig. 4에는 큰 기여비율을 나타낸 기질-수용체 사이의 소수성에 대하여 검토하고자 MOLCAD 기법을 적용하여 pOBP (1HQP)의 반응점(PRZ160) 내의 소수성적인 환경을 제시하였다.

고 찰

결합 친화력상수와 QSAR 모델

pOBP에 대하여 관측된 결합친화력상수(*Obs.*p[Od]$_{50}$)에 기초하여(Table 1) 유도된 최적화된 CoMFA 모델(Table 2)의 기여비율(%)은 입체장과 소수성장이 비슷한 수치였고 정전기장이 가장 작은 기여비율을 나타내었으나, Co-

Table 3. Calculated docking scores (DS; kcal/mol) of tetrahydrofuran-2-yl analogues to pOBP and pPBP, and predicted DS (Pred.) by the optimized CoMFA models

No.	pOBP (1HQP)			pPBP (1GM6)		
	DS	Pred.	Δ[a)]	DS	Pred.	Δ[a)]
1	6.08	5.70	0.38	5.90	5.38	0.52
2	5.07	5.20	−0.13	6.27	5.68	0.59
3	6.06	6.11	−0.05	4.75	5.08	−0.33
4	5.00	5.06	−0.06	4.91	5.14	−0.23
5	5.02	5.16	−0.14	5.89	5.88	0.01
6	5.33	5.26	0.07	5.77	6.04	−0.27
7	5.56	5.49	0.07	4.85	4.86	−0.01
8	6.58	6.37	0.21	3.75	3.34	0.41
9	6.52	6.28	0.24	2.69	2.73	−0.04
10	6.96	7.17	−0.21	1.66	2.36	−0.70
11	6.60	6.60	0.00	1.53	1.03	0.50
12	5.32	5.30	0.02	5.53	5.79	−0.26
13	5.41	5.69	−0.28	3.69	3.67	0.02
14	6.41	6.47	−0.06	1.54	1.82	−0.28
15	6.24	6.21	0.03	1.13	1.08	0.05
PRESS			0.426			1.912
Ave.			0.130			0.281

Notes: 2-cyclohexyloxytetrahydrofuran (A: 1~11), 2-phenoxytetrahydrofuran (B: 12~15), [a)] difference of calculated DS and predicted DS by optimized models in Table 4.

MSIA 모델은 다른 경향이었다. 이중에서 CoMFA 모델은 예측성($r^2_{cv.}$=0.856)과 상관성($r^2_{ncv.}$=0.969)이 통계적으로 가장 양호하였다. 또한 이 모델의 결합친화력상수에 대한 기여비율(%)은 입체장 44.7%, 정전기장 12.9% 그리고 소수성장 42.5%로 입체장과 소수성장이 1:1의 비율로 크게 영향을 미치었고, 정전기장은 입체장과 정전기장에 비하여 1:3의 비율로 작은 기여비율(S=Hy>E)을 나타내었다. 이와 같이 도킹된 조건에서 유도된 CoMFA 모델은 전보(성 등, 2006)의 결과와 일치하는(S=44.6%, E=14.6% 및 Hy=44.6%) 결과였으나, 통계값이 낮은 CoMSIA 모델의 경우는 달랐다. 또한, pPBP(SAL)에 적용한 경우(조, 2009)에는 Hy>E>S의 순서로 소수성의 기여비율이 가장 높았다. 전보(박 등, 2007)에서는 tetrahydrofuran-2-yl 유도체들 치환기(R)의 소수성(substituent lipole)에 관한 적정값이 $(SL)_{opt.}$=1.418일 때 가장 높은 결합친화력을 나타냄을 보고하였다.

또한, pOBP에 대하여 관측된 결합친화력상수와 최적화된 CoMFA 모델로 예측한 값(*Pred.*) 사이의 상관성은 매우 양호하였으며, 관계식(*Pred.*p$(Od)_{50}$=0.961*Obs.*p$(Od)_{50}$+0.211, n=15, s=0.122, F=364.561, r^2=0.965 및 q^2=0.937)으로부터 최적화된 CoMFA 모델이 결합친화력상수를 잘 설명하고 있을 뿐 아니라, 이 식으로 현저히 개선된 페로몬성 냄새분자의 예측이 가능할 것으로 판단되었다. 또한, OBP에 대한 기질 화합물들의 결합친화력상수와 DS와의 상관관계는 Fig. 1과 같았으며, 반비례 관계는 다음 식(pOBP: DS=-0.844*Obs.*p$[Od]_{50}$+10.435, n=15, s=0.388, F=28.133, r^2=0.684 및 q^2=0.608)과 같다. 이 그래프에 따르면 DS가 클수록 역의 대수(-log)로 나타낸 결합친화력상수도 큰 경향을 보이는 것으로 설명된다.

기질-수용체 등고도 분석

pOBP의 경우, 1HQP-2-isobutyl-3-methoxypyrazine 착화합물의 결정 구조로부터(Massimiliano 등, 2001) 확인된 반응점(PRZ160) 내, 도킹된 기질분자(10)의 구조상에 결합친화력에 관련한 최적화된 CoMFA 모델의 정보중, 큰 기여비율(%)을 나타낸 입체장과 소수성장에 관한 등고도(Fig. 2 및 3)와 기질분자를 중심으로 2.5 Å 거리에 위치한 아미노산 잔기들을 나타내었다. 입체장에 관한 등고도에서(Fig. 2)는 극성잔기 Asn86과 전하를 띠지 않는 비극성 잔기 Phe35, Val37, Val80, Gly116 및 Leu118 등, 총 6개의 아미노산 잔기들이 존재하여 소수성적인 환경이 조성되어 있음을 알 수 있다. 그 결과, 기질 화합물과 주변 아미노산과의 공간이 큰 곳에는 입체적인 방해를 받지 않으므로 입체성이 큰 치환기가 위치할수록(green) 그리고 cyclohexyl기가 위치한 부분은 작은 치환기(yellow)가 결합친화력을 증가시키는 요인으로 작용하는 것으로 판단된다. 정전기장의 경우에는 등고도를 제시하지 않았으나 기질 분자의 주위에 아미노산 잔기 방향으로 음전하를 갖는 치환기가 올수록 활성이 증가하는 경향을 보였다. 또한, 소수성장에 관한 등고도(Fig. 3), CoMFA-HINT map에 따르면 (R)-cyclohexyl 및 phenyl기의 ether 결합상 산소(O) 원자의 주위에 친수성 치환기(blue), 그리고 cyclohexyl 및 phenyl기의 주변에는 소수성 치환기(red)가 결합 친화력을 증가시킬 것으로 예상되었다.

도킹 스코어와 QSAR 모델

두 수용체에 대한 기질분자들의 DS값(Table 3)은 대체로 pPBP(1GM6)보다 pOBP (1HQP)에 대한 DS가 큰 값을 보였다. 이들 DS값들에 근거하여 유도한 pOBP 및 pPBP에 대한 CoMFA 모델들이 통계적으로 양호한(Table 4) 모델이었다. 그러나 pOBP에 대한 CoMSIA 모델은 예측성($r^2_{cv.}$=0.381)이 불량하였으나, 상관성($r^2_{ncv.}$=0.944)이 양호하였다. 그러나 CoMSIA 모델에 따르면 CoMFA 모델에 비하여 입체장의 기여비율은 없었으나 정전기장 34.9 % 그리고 소수성장 38.7%로 두 특성장이 비슷하였으며 (E= Hy) 특히, H-결합받게장이 26.3%를 점유하는 특징을 나타내었다. pOBP에 대한 CoMFA 모델의 DS에 대한 기여비율(%)은 입체장 42.6%, 정전기장 24.8% 그리고 소수성장이 32.5%로 관측된 결합친화력상수에 기초한 CoMFA 모델의 경우(Table 2)와 유사한 경향이었다. pPBP에 대한 경우에도 CoMFA 모델의 DS에 대한 기여비율(%)이 입체장 44.1%, 정전기장 16.6% 그리고 소수성장 39.1%로 pOBP에 대한 CoMFA 모델의 기여비율과 비슷한 경향(S> Hy>E)을 나타내었다. pOBP 및 pPBP 두 경우 모두, 입체장과 소수성장이 정전기장보다 큰 기여비율을 보였다. 전체적으로 3D-QSAR 모델들의 오차(PRESS 및 Ave.)와 통계값(Table 3 및 Table 4)으로부터 pOBP에 대한 CoMFA 모델이 pPBP에 대한 CoMFA 모델보다 양호한 최적화된 모델이었다.

기질-수용체 상호작용

두 수용체(pOBP 및 pPBP)에 도킹되는 기질분자들의 DS값들 사이의 관계를 검토한 결과, 다음 식 (PBP(DS)=−2.163OBP(DS)+16.706 (n=15, s=1.201, F=20.043 r^2=0.607 및 q^2=0.511)과 같은 반비례 관계를 나타내었다. 이로부터 pOBP에 대하여 큰 DS값을 나타내는 화합물은 pPBP에

Table 4. Summary of contribution ratio and statistical parameters of 3D-QSAR models for DS

Receptors	Models	Contribution ratio (%)				PLS Analyses					
		S	E	Hy	HA	Grid(Å)	NC	$r^2_{cv.}$	$r^2_{ncv.}$	SE_{ncv}	F
pOBP	CoMFA[a)]	42.6	24.8	32.5	-	1.5	2	0.584	0.930	0.181	80.294
	CoMSIA	-	34.9	38.7	26.3	1.0	2	0.381	0.944	0.170	101.269
pPBP	CoMFA[a)]	44.1	16.6	39.1	-	2.0	2	0.796	0.963	0.381	158.317
	CoMSIA	15.7	-	38.0	46.3	2.5	2	0.693	0.923	0.157	71.976

Notes: Alignment; using the "align database" option of Sybyl., [a)]optimized model.

대하여 작은 DS값을 나타냄을 알 수 있다. 이는 pOBP (1HQP)의 반응점(PRZ160)과 pPBP (1GM6)의 반응점 (GOL1167)이 구비한 위상학적인 특징(Spinelli 등, 2002; Massimiliano 등, 2001)으로 인한 결과로 예컨데, 1HQP의 Van der Waals 표면적은 424.9Å^2, 부피는 549.3 Å^{3}이고, 1GM6의 표면적은 287.3Å^2, 부피는 339.4Å^{3}으로 pOBP가 pPBP보다 입체적으로 약 3배 가량 크기 때문으로 설명된다. 특히, 화합물 6 (DS: pOBP=6.08 및 pPBP=5.90)은 두 수용체에 대하여 비슷한 정도의 큰 DS값을 나타내는 (Table 3) 화합물이었다. 두 수용체에 도킹되는 기질분자들의 DS값들 사이의 반비례 관계에 미치는 영향을 구체적으로 알아보기 위하여 기질분자들의 설명인자를 계산하여 검토한 결과, pPBP에 대한 DS값은 기질분자의 입체성 상수(분자량, 분자 표면적(Å^2), 분자 부피(Å^3), 분자 굴절 상수(MR; cm^3/mol) 및 Randic index) 및 소수성 상수(logP, total lipole)가 감소함에 따라 증가하였다. 그러나 pOBP에 대한 DS값은 입체성 상수와 소수성 상수값이 증가함에 따라 증가하여 pPBP의 경우와 정 반대의 경향이었으며 Balaban index 및 쌍극자 능률값들은 pPBP 및 pOBP 어느 경우이든 일정한 경향을 나타내지 않았다. 이 같은 사실은 최적화된 CoMFA 모델의 DS에 대한 기여비율(Table 4)이 입체장과 소수성장이 같은 비율(S:Hy=1:1)로 크게 영향을 미친다는 사실과 일치함을 잘 설명하고 있다.

한편, 생체내 기질-수용체 사이의 반응은 주로 입체성, 정전기성, 소수성 및 H-결합성으로 이루어진다. DS에 관한 CoMSIA 모델의 예측성(r^2_{cv}=0.381)이 기준값에 미달하여(Table 4) H-결합주게장에 관한 등고도를 제시하지 않았으나, H-결합받게장(HA=26.3%)을 선호하는 특성장이 형성된 tetrahydrofuranyl 고리와 cyclohexyl 고리 사이의 산소(O) 원자와 GLY116와의 거리는 5.87Å 및 tetrahydrofuranyl 고리상 산소원자와 GLY116와의 거리는 5.55 Å을 각각 유지하여 H-결합이 형성되어 있지 않았다. 또한, tetrahydrofuranyl 고리는 주변 아미노산 잔기인 GLY116 및 LEU118과의 거리가 3.8~7.2Å인데 비하여 (R)-cyclohexyl 및 phenyl 고리는 주변의 나머지 아미노산 잔기 PHE35, VAL37, ASN86 및 VAL80과의 거리가 2.1~4.9Å 정도로 근접하고 있었다. 그리고 큰 영향을 미치는 소수성적인 상호작용에 대하여 검토하고자 MOLCAD 기법을 적용하여 수용체 pOBP(1HQP) 분자내 깊은 cavity 형태로 존재하는 반응점(PRZ160)에 도킹된 기질분자(10)의 주변에 위치한 아미노산 잔기들에 대하여 lipophilic potential (L.P)을 Fig. 4에 제시하였다. 왼쪽에 제시한 L.P barometer에 기초하여 반응점 내 기질분자는 극성잔기(녹색) Asn86과 전하를 띠지 않는 비극성 잔기 Phe35, Val37, Val80, Gly116 및 Leu118 등, 소수성(갈색)이 큰 아미노산 잔기들과 소수성적인 상호작용으로 도킹되어 있음이 관찰되고 있다. 이와 같이 MOLCAD는 화학구조와 그들의 물리-화학적인 성질들 사이의 관계를 3차원 구조뿐 아니라, 분자 표면적의 물리-화학적 및 그에 관련한 유사한 정보들을 시각적으로 보여준다.

다음 연구는 두 수용체의 반응점에 대한 냄새 물질(flavornet)들의 Virtual screening(Kubinyi, 2008)을 실시하고, DS와 설명인자들로부터 새로운 형태의 돼지 페로몬성 물질을 제시하고자 한다.

인용문헌

1. Beynon RJ, Hurst R (2004): Urinary proteins and the modulation of chemical scents in mice and rats. Peptides 23:1553-1563.
2. Brennan PA (2001): The vomeronasal system. Cell Mol Life Sci 58:546-555.
3. Chen G, Luo X, Zhu W, Luo C, Liu H, Puah CM, Chen K, Jiang H (2004): Elucidating inhibitory models of the inhibitors of epidermal growth factor receptor by docking an 3D-QSAR. Eur J Med Chem 12:2409-2417.
4. Dal Monte M, Centini M, Anselmi C, Pelosi P (1993): Binding of selected odorants to bovine and porcine odorant-binding proteins. Chem Sences 18:713-721.
5. Gerritsen R, Lnagendijk P, Soede NM, Kemp B (2005): Effect of (artifical) boar stimuli on uterine activity in estrous sows. Theriogenology 64:1518-1525.
6. Gohlke H, Klebe G (2002): Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-mollecule ligands to macromolecular receptors. Angew Chem Int 41:2644-2676.
7. Jain AN (2003): Sulflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. J Med Chem 46:499-511.
8. Krzymowski T, Grzegorzewski W, Stefanczyk, Krzymowska S, Skipor J, Wasowska B (1999): Humoral pathway for transfer of the boar pheromone, androstenol from the nasal mucosa to the brain and hypophysis of gilts. Theriogenology 52:1225-1240.
9. Lee SH, Yang SH, Lee KT, Kwon YJ, Cho WJ (2009): Molecular design, synthesis and docking study of benz[b] oxepines and 12-oxobenzo[c] phenanthridinones as topoisomerase 1 inhibitors. Bioorganic & Medical Chemisry Letters 19:2444-2447.
10. Lindber W, Persson JA, Wold S (1988): Partial lesast-squares method for spectrofluorimetric analysis of mixture of humic acid and ligninsulfonate. Anal Chem 55:643-648.
11. Lnagendijk P, Bouwman BG, Schams D, Soede NM, Kemp B (2003): Effects of different sexual stimuli on oxytocin release, uterine activity and receptive behaviour in oestrous sows. Theriogenology 59:849-861.
12. Massimiliano P, Filippo M, Romina DG, Hugo LM (2001): Crystal structure of a truncated form of porcine odorant-binding protein. Proteins: Structure Function and Genetics 42:201-209.
13. Pelosi P (1994): Odorant-binding proteins. Crit Rev Biochem Mol Biol 29:199-228.
14. Pelosi P (1996): Perireceptor events in olfaction. J Neurobiol 30:3-19.
15. Pelosi P (2001): The role of the perireceptor events in vertebrates olfaction. Cell Mol Life Sci 58:503-509.

16. Peng H, Wang T, Xie Pe, Chen T, He HW, Wan J (2007): Molecular docking and three-dimensional quantitative structure-activity relationship studies on the binding modes of herbicidal 1-(substituted phenacetoxy)-alkylphosphonates to the E1 component of pyruvate dehydrogenase. J Agric Food Chem 55: 1871-1880.
17. Quian L, Brian M, Karl S, Julian S (2007): Tagged fragment method for evolutionary structure-based de novo lead generation and optimization. J Med Chem 50:5392-5402.
18. Rekwo PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO (2001): The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. Animal Reproduction Science 65: 157-170.
19. Sankar R, Archunan G (2004): Flehmen response in bull: role of vaginal mucus and other body fluids of bovine with special reference to estrus. Behav Processes 67:81-86.
20. Schneider G, Baringhaus, KH (2008); Molecular Design: Concepts and Applications. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. LGaA, Weinheim 149-192.
21. Spinelli S, Vincent F, Pelosi P, Tegoni M, Cambillau (2002): Boar salivary lipocalin; Three-dimensional X-ray structure and androstenol/androstenone docking simulations. Eur J Biochem 269:2449-2456.
22. Sybyl, Version 8.1; Tripos Inc. St. Louis, USA 2009.
23. Vincent F, Spinelli S, Ramoni R, Grolli S, Pelosi P, Cambillau C, Tegon M (2000): Complexes of porcine odorant binding protein with odorant molecules belonging to different chemical classes. J Mol Biol 300:127-139.
24. Yi P, Qiu M (2008): 3D-QSAR and docking studies of aminopyridine carboxamide inhibitor of c-Jun N-terminal kinase-1. Eur J Med Chem 43:604-613.
25. 박창식, 최양석, 성낙도 (2007): 생물학적 자극통제 수단으로 활용하기 위한 돼지 페로몬 성 냄새물질의 탐색: 2-(cyclohexyloxy)tetrahydrofurane 유도체 구조와 porcine odorant binding protein 사이의 결합 친화력에 관한 2D-QSAR 모델. 동물번식학회지 31:15-20.
26. 박창식, 송석오, 임재삼, 성민규, 성낙도 (2009): 생물학적 자극통제 수단으로 활용하기 위한 돼지 냄새물질의 탐색: N^1-allyl-N^2-(tetrahydrofuran-2-ylmethyl)-oxalamide 분자의 합성과 돼지발정 유도 효과. 동물번식학회지 33:1-5.
27. 성낙도, 박창식, 정훈성, 성민규 (2006): 생물학적 자극통제 수단으로 활용하기 위한 돼지 페로몬성 냄새물질의 탐색: 2-(cyclohexyloxy)tetrahydrofurane 유도체 구조와 돼지 냄새물질 결합 단백질 사이의 결합 친화력에 관한 비교 분자장 분석(CoMFA). 동물번식학회지 30:13-19.
28. 조윤기 (2009): 2-(Cyclohexyloxy)tetrahydrofurane 유도체의 Lipocalin에 대한 분자도킹과 높은 결합 친화력 화합물의 예측. 충남대학교 대학원 석사학위논문.

(접수일자: 2010. 1. 28 / 채택일자: 2010. 3. 23)