

구조-활성관계(제 2 보). Folate 유사체의 구조와 활성

朴聖植* · 呂壽東†

경성대학교 이과대학 화학과

† 경북대학교 사범대학 화학교육과

(1992. 11. 27 접수)

Structure-Activity Relationship(II). Structure and Activity of Folate Analogues

Seongsik Park* and Soo-Dong Yoh†

Department of Chemistry, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

† Department of Chemistry Education, Kyungpook National University,

Taegu 702-701, Korea

(Received November 27, 1992)

요 약. Folate 유사체의 anti-folate 활성과 물리적 성질의 상관성을 찾기 위하여 기하구조 파라미터, 쌍극자 모멘트, net charge, HOMO, LUMO 에너지 등 전자의 구조적 특성을 MM2와 MOT에 의해 검토하였다. 전자적 성질은 folate 유사체의 inhibition과 어떠한 상관성도 보이지 않았으며 형태분석에 의한 기하구조 파라미터가 상관성을 나타내었다.

ABSTRACT. To find out a correlation between anti-folate activity and physical properties of folate analogues, geometric parameters, dipole moment, net charges, HOMO and LUMO energies were calculated. The electronic properties do not give any correlations with inhibition of folate reductase, but the calculated geometries show some correlations.

서 론

Folate reductase는 folate 또는 dihydrofolate를 tetrahydrofolate로 변환시키는 촉매 역할을 한다¹⁻⁴. Dihydrofolate reductase(DHFR)의 X-ray 결정구조의 결정⁵으로 이 효소의 억제제의 설계에 있어서 molecular graphics와 molecular modelling은 대단히 큰 흥미를 갖게 되었다. DHFR 억제제는 강력한

항암제로 작용하고 있으며, anti-tumor, anti-folate 활성의 메카니즘을 설명하기 위해 folate-binding model 등이 제시되었다^{6,7}.

본 연구에서는 억제제로 작용하는 folate 유사체(Fig. 1)의 활성과 이들의 molecular parameter 및 전자의 구조적 특성 등을 상관지어 보고자 한다.

이론 및 계산

분자 수준에서 구조-활성 관계(Structure-Activity Relationship, QSAR)의 연구에는 효소나 조직의 일부와 같이 활성자리를 가지고 있으며, 생물학적으로 중요한 분자는 강제 또는 반강제로 간주한다. 기질의 활성화 자리가 수용체 자리와 결합할 때 활성기의 공간 위치 관계는 기질의 에너지가 최소화된 기하

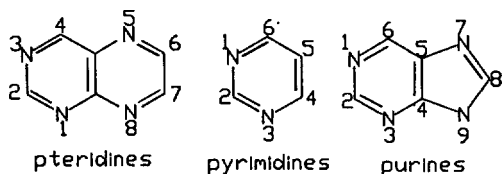


Fig. 1. Numbering of the heterocyclic rings used this paper.

구조로 결정된다⁸.

기질-수용체 착물의 결합에너지는 모든 유사체가 수용체 자리와 비슷한 상호작용 에너지를 갖는다고 가정한다. 이 모델에 따르면 수용체와 결합 또는 수용체와 활성화 착물을 형성하는 유사체의 작용 능력은 생물학적으로 활성인 형태에 기인할 것이다. 그러므로, 먼저 구조 결정에 가장 좋은 방법으로 알려진 empirical method인 분자역학법(Molecular Mechanics)⁹을 사용하여 형태 분석을 행하였으며 分子設計支援 system인 MODEL MATE¹⁰를 사용하여 folate 유사체의 전자 구조적 특성을 검토하였다.

결과 및 고찰

형태분석(Molecular Mechanics 2)⁹. 수용체인 folate reductase에 대한 folate 유사체의 활성을 나타내는 inhibition constant(K_i)를 Table 1에 나타내었다⁷. 이들 유사체의 중요한 활성자리인 아미노기, 히드록시기와 수용체인 효소의 acidic center와 결합할 수 있는 고리의 질소 원자간의 상호위치 결정에 주안점을 두었다.

Table 2에서 활성이 가장 강한 pteridine 유사체(3)의 공간거리는 N_1-H_b : 2.54Å, N_1-H_c : 3.20Å, N_1-H_d : 4.65Å, N_1-H_e : 4.71Å이다. 다음으로 강한 활성을 나타내는 pyrimidine 유사체(11)도 유사체(3)과 비슷한

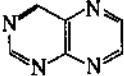
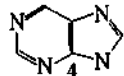

기하학적 파라미터를 가지고 있다.

이러한 기하학적 파라미터를 갖는 유사체는 활성기의 공간위치가 수용체 자리에 적절히 대응하는 것으로 간주된다¹¹. 따라서 이들 유사체(3)과 (11)의 기하학적 파라미터로부터 수용체 자리(receptor site)의 크기를 추정할 수 있다.

비교적 활성이 강한 pteridine 유사체(1), (2)와 pyrimidine 유사체(12), (13)은 활성기인 아미노기의 수소원자와 질소원자(N_1)간의 공간거리가 유사체(3), (11)과 비슷함을 보이고 있다. 비슷한 기하구조 파라미터를 가지는 이러한 유사체들은 수용체 자리와 수소결합을 형성할 수 있을 정도의 공간거리가 형성된다고 볼 수 있으므로 억제제로서 활성을 나타낸다고 추정할 수 있다.

Pteridine 유사체(4)는 특수한 조건에서 고려되었으므로 이번 고찰에서 제외되었다. 유사체(5), (6)과 purine 유사체(8), (9), (10) 및 pyrimidine 유사체(14)는 활성을 나타내지 않는다(inactive). 즉 유사체(5), (6), (8), (14)는 두 개의 아미노기 중의 한 개가 히드록시기로 치환되었으며, 유사체(9), (10)은 수소원자로 치환되어 활성자리가 부족하므로 비활성이다. pteridine 유사체(5)는 N_1-H_b : 2.53Å, N_1-H_c : 3.20Å, N_1-H_d : 4.53Å의 공간거리를 나타냄으로써 N_1-H_b 와 N_1-H_c 의 공간거리는 강한 활성을 나타내는 유사체

Table 1. Compounds tested as inhibitors of folate reductase ($K_m=4.4 \times 10^{-4}$)

Ring system	Analogues No.	Substitutions	K_i^a
 Pteridine	1	2,4-Diamino-6-methyl	4.7×10^{-7}
	2	2,4-Diamino-6-formyl	8.1×10^{-6}
	3	2,4-Diamino-6-hydroxy	9.0×10^{-5}
	4	2-Amino-4-hydroxy-6-formyl	2.9×10^{-4b}
	5	2-Amino-4-hydroxy-6-methyl	Inert
	6	2-Amino-4,6-dihydroxy	Inert
 Purine	7	2,6-Diamino	1.5×10^{-6}
	8	2-Amino-6-hydroxy	Inert
	9	2-Amino	Inert
	10	6-Amino	Inert
 Pyrimidine	11	2,4,5,6-Tetraamino	4.8×10^{-5}
	12	2,6-Diamino-4,5-dimethyl	2.8×10^{-5}
	13	2,6-Diamino-4-methyl	2.6×10^{-5}
	14	2,4-Diamino-6-hydroxy	Inert

^aDetermined 37° and pH 6.0. ^bThis compound is a substrate with $K_m=3.3 \times 10^{-4}$ (other condition).

Table 2. Spatial distances(Å) from individual hydrogen atoms in amino group to cyclic nitrogen atoms

Ana ^a	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
N ₁ -H _a	2.53	2.53	2.54	2.53	2.53	2.54	2.53	2.54	2.53	-	2.55	2.55	2.54	2.54
N ₁ -H _b	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.20	3.21	3.21	-	3.21	3.21	3.21	3.21
N ₁ -H _c	4.66	4.66	4.65	-	-	-	4.70	-	-	4.69	4.60	4.60	4.63	-
N ₁ -H _d	4.70	4.71	4.71	4.53	4.53	4.53	4.74	4.51	-	4.73	4.71	4.69	4.68	4.51
N ₂ -H _a	3.23	3.23	3.23	3.23	3.23	3.23	3.22	3.21	3.22	-	3.21	3.21	3.21	3.21
N ₂ -H _b	2.55	2.55	2.55	2.55	2.55	2.55	2.54	2.54	2.54	-	2.54	2.55	2.54	2.54
N ₂ -H _c	2.54	2.53	2.54	-	-	-	2.57	-	-	2.57	2.49	2.50	2.54	-
N ₂ -H _d	3.21	3.20	3.20	3.13	3.14	3.13	3.23	3.15	-	3.23	3.20	3.21	3.21	3.15

^aAna: Analogues, ^bDis: Distance.

Table 3. Spatial distances(Å) of the individual hydrogen atoms between the amino group

Ana ^a	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
N _a -H _c	5.70	5.69	5.69	-	-	-	5.72	-	-	-	5.63	5.64	5.69	-
N _a -H _d	6.39	6.39	6.39	6.29	6.29	6.29	6.40	6.28	-	-	6.38	6.38	6.38	6.28
N _b -H _c	4.64	4.64	4.64	-	-	-	4.66	-	-	-	4.57	4.59	4.65	-
N _b -H _d	5.69	5.69	5.69	5.65	5.65	5.65	5.70	5.66	-	-	5.67	5.68	5.70	5.66

^aAna: Analogues, ^bDis: Distance.

(3)과 거의 차이가 없으나 N₁-H_d는 0.18Å 정도 짧으므로 수용체의 활성자리와의 상호작용에는 무리가 있어 활성을 나타낼 수 없다. 또한 puridine 유사체 (8)도 비슷한 현상을 나타낸다.

대체로 활성이 강한 pyrimidine 유사체들 중에서 유사체(14)만이 비활성이다. N₁-H_d의 공간거리가 4.51Å으로써 활성인 유사체에 비해 0.20Å 정도 짧으므로 인하여 수용체의 활성자리와의 공간배향이 좋지 않다는 것을 의미한다. 즉 비활성인 유사체들은 활성이 강한 유사체의 N₁-H_d의 공간거리보다 0.20Å 정도 짧으므로 수용체의 활성자리와의 공간거리가 너무 멀어서 적절히 수소결합을 형성할 수 없으므로 비활성이라는 사실을 추론할 수 있다. 이러한 사실은 수소결합은 geometric criterion에 있어서 상당히 민감하다는 사실과 일치한다¹².

이러한 QSAR은 수용체인 효소의 acidic center와 결합할 수 있는 basic group인 고리의 또 다른 질소원자에서 다른 활성자리와의 공간거리에서도 유사한 특징을 나타내고 있다. pteridine 유사체(3)은 활성자리간의 공간거리가 N₂-H_a: 3.23Å, N₂-H_b: 2.55Å, N₂-H_c: 2.54Å, N₂-H_d: 3.20Å으로 활성인 유사체

들은 이와 비슷한 기하구조 파라미터를 가지고 있다.

아미노기의 수소원자 중 효소의 활성자리와 수소결합을 형성할 수 있는 것은 수용체의 활성자리와 적절한 배향을 이룬 원자일 것이다. 활성인 유사체가 비활성인 유사체에 비해 H_a-H_d의 공간거리가 0.09~0.12Å 정도 더 먼 거리에 위치한다(Table 3). 이러한 사실은 diphenylthiourea의 antiviral 활성형태가 basic center인 =S에서 acidic center인 -OH간의 공간거리 d_{S-H}가 최대인 6.68~6.75Å일 때 활성을 나타낸다는 사실과 일치한다¹³.

Table 4에 나타나 있는 바와 같이 두 개의 아미노기 중에서 한 개가 히드록시기로 치환된 유사체의 -OH 회전 에 의한 다른 이형태체에서도 유사한 경향을 보이고 있다. 활성인 유사체(3)의 공간거리에 비해 비활성인 유사체는 N₁-H_c: 4.45~4.48Å으로서 히드록시기를 가진 유사체의 공간거리는 N₁-H_d보다 N₁-H_c가 더욱 짧다. 또한 N₂-H_c: 2.33Å으로써 H_d보다 H_c에 위치해 있을 경우 수용체의 활성자리와의 공간거리는 더욱 멀어지므로 수소결합은 더욱 어려워진다. 그러므로 두 개의 아미노기 중에서 한 개가 히드록시기로 치환되었을 때의 유사체는 수용체의

활성자리와 상호 수소결합을 형성할 수 있는 수소 원자의 공간 배향에는 관계없이 공간거리가 멀리 위치하므로 억제제로서 활성을 나타내지 않는다고 추정할 수 있다.

이상적인 수용체 자리와 대응 위치하는 유사체의 활성자리간의 공간 배향을 알아보기 위하여 Distance index(DI)¹³를 Table 5에 나타내었다. 활성이 가장 강한 2,4-diamino-6-hydroxy-pteridine(3)을 기

Table 4. Spatial distances(Å) of different hydroxy group configuration against analogue(3)

Ana ^a	3	5 ^c	6 ^c	14 ^c
Dis ^b				
N ₁ -H ₆	2.54	2.53	2.53	2.54
N ₁ -H ₈	3.20	3.20	3.20	3.20
N ₁ -H ₄	4.65	-	4.47	-
N ₁ -H ₂	4.71	4.53	-	4.53
N ₂ -H ₇	3.23	3.23	3.23	3.23
N ₂ -H ₅	2.55	2.55	2.55	2.55
N ₂ -H ₁	2.54	-	2.33	-
N ₂ -H ₃	3.20	3.14	-	3.13
H ₆ -H ₈	5.69	-	5.47	-
H ₆ -H ₄	6.39	6.29	-	6.29
H ₈ -H ₂	4.64	-	4.41	-
H ₄ -H ₂	5.69	5.65	-	5.65

^aAna: Analogues, ^bDis: Distance, ^cO-H rotational conformers.

Table 5. Distance indexes(Å) of Folate analogues

Ana ^a	Dis ^b	N ₂ -H ₆	N ₂ -H ₄	N ₁ -H ₆	N ₁ -H ₈	H ₆ -H ₄	N ₁ -N ₂	Distance index
1		2.53	4.70	3.23	3.21	6.39	2.32	0.003
2		2.53	4.71	3.23	3.20	6.39	2.32	0.005
3		2.54	4.71	3.23	3.20	6.39	2.32	0.000
4		2.53	4.53	3.23	3.13	6.29	2.33	0.212
5		2.53	4.53	3.23	3.14	6.29	2.32	0.216
6		2.54	4.53	3.23	3.13	6.29	2.32	0.214
7		2.53	4.74	3.22	3.23	6.40	2.34	0.046
8		2.54	4.51	3.21	3.15	6.28	2.32	0.234
9		2.53	-	3.22	-	-	2.34	0.020
10		-	4.73	-	3.23	-	2.33	0.038
11		2.55	4.71	3.21	3.20	6.38	2.31	0.025
12		2.55	4.69	3.21	3.21	6.38	2.31	0.030
13		2.54	4.68	3.21	3.21	6.68	2.32	0.040
14		2.54	4.51	3.21	3.15	6.28	2.32	0.234

^aAna: Analogues, ^bDis: Distance.

준 물질로 하여 DI_i가 0.05Å 이내의 값을 가지면 활성을 나타내고 이 범위를 벗어난 유사체는 비활성으로 분류되었다. 비활성인 유사체의 Distance index, DI_i=0.21~0.23Å으로 활성이 강한 유사체(3)에 비하여 수용체 자리와 활성자리 간에 상호작용을 할 수 있는 공간 배향이 적절히 이루어지지 못한다는 것을 의미한다. purine 유사체(9), (10)은 Distance index가 0.02Å, 0.04Å으로 수용체자리와 충분히 대응할 수 있는 것으로 보인다. 그러나, 유사체(9)는 4-위치, 유사체(10)은 2-위치에 활성기(active group)가 존재하지 않으므로 비활성을 나타낸다. 이들의 Distance index는 수용체 자리와 활성자리 간에 상호작용할 수 있는 공간 배향이 기하구조에 상당히 민감하다는 것을 의미한다¹⁴.

전자구조(Semiempirical method). 활성기인 아미노기, 히드록시기, basic center의 질소원자는 수소결합을 통하여 수용체 자리와 결합하게 되므로 그들의 전자구조는 생물학적 활성에 영향을 클 것으로 기대된다¹³.

Fig. 2에 分子設計支援 system인 MODEL MATE¹⁰를 이용하여 계산한 결과를 나타내었다. 그러나, folate 유사체의 net charge와 활성과는 어떠한 상관성을 보이지 않고 있다. 그리고 다른 MO 파라미터도 활성자리에서 유사한 경향을 나타내었다. 이는 folate

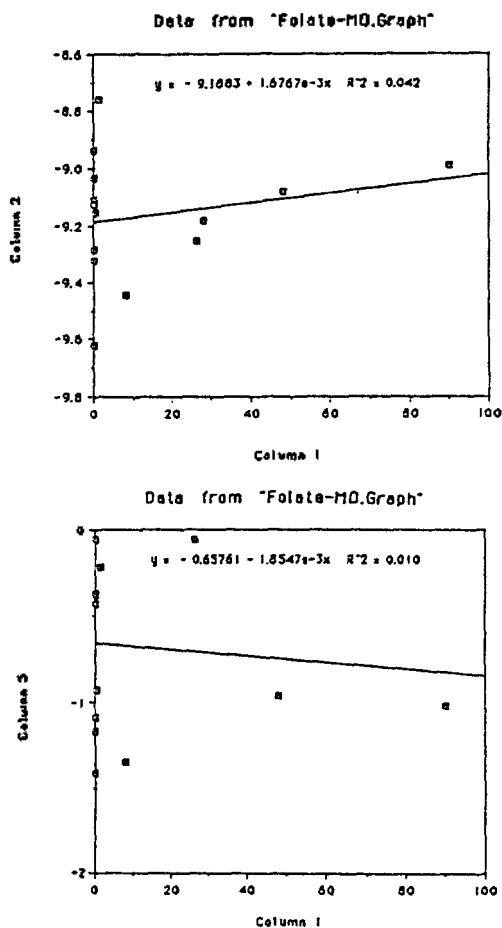


Fig. 2. Calculated electronic parameters of folate analogues by MNDO of MODEL MATE. Column 1; Inhibition constant ($\times 10^{-6}$), Column 2; HOMO energy, Column 5; LUMO energy.

유사체의 전자적인 특성이 수용체와의 작용에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다.

결론

Folate reductase와 결합하는 folate 유사체의 각 활성기의 공간 위치에 상응하는 receptor-site model을 선정하여 형태분석에 의하여 구조-활성관계를 상관지웠다. folate 유사체의 활성은 Distance index, DI_i 가 0.0~0.05Å(active form)으로 기하구조에 매우

민감하였다.

전자의 구조적 특성은 유사체들 사이에는 일관성을 보이지 않고 분포되어 있으며 활성과는 상관성을 나타내지 않았다.

이 연구는 교육부의 특성화 학과 지원으로 수행 되었으므로 이에 깊은 감사를 드립니다.

인용문헌

1. S. Futterman, *J. Biol. Chem.*, **228**, 1031 (1957).
2. S. F. Zakrzewski and C. A. Nichol, *ibid.*, **235**, 2984 (1960).
3. J. M. Peters and D. M. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 6679 (1958).
4. R. L. Blakley and B. M. McDougall, *J. Biol. Chem.*, **236**, 1163 (1961).
5. J. T. Bolin, D. J. Filman, D. A. Matthews, R. C. Hamlin, and J. Kraut, *ibid.*, **257**, 13650 (1982).
6. C. A. Reynolds, W. G. Richards, and P. J. Goodford, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 551 (1988).
7. S. F. Zakrzewski, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1485 (1963); **238**, 4002 (1963).
8. H. Van de Waterbeem and B. Testa, *J. Med. Chem.*, **26**, 203 (1983).
9. N. L. Allinger, Y. H. Yuh, QCPE, **13** (1980); Program No. 395.; Program MMPMI, Serena Software.
10. 日本 豊橋技術科學大學 大澤研究室: APP 日立 分子設計支援 system, MODEL MATE; QCPE 353 (MNDO), QCPE 135(MBLD), QCPE 454(ECEPP/2) and QCPE 340(PSI/77), QCPE 395(MM2), QCPE 410(BIGSTRN-2), QCPE 344(FORTICON 8), etc.
11. E. Osawa, G. Szatontai, and A. Tsurumoto, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1209 (1983).
12. J. Pranata and W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 9438 (1991).
13. A. S. Galabov, B. S. Galabov, and N. A. Neykova, *J. Med. Chem.*, **23**, 1048 (1980).
14. C. Yamagami, N. Takao, M. Horisaka, S. Asada, and T. Fujita, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 5003 (1984).