한국농약과학회지 제2권 제2호(1998)
The Korean Journal of Pesticide Science
Vol. 2, No. 2, pp.16~21(1998)

비스 방향족 α,β 불포화 케톤 유도체 중 2-thienyl 및 2-furyl 치환체의 항균활성에 관한 비교분자장 분석(CoMFA)

성낙도* · 유성재 · 임치환 · 赤松美紀[1]

충남대학교 농과대학 응용생물화학부, [1]교토대학교 농학부

요약 : 비스 방향족 α,β-불포화 케톤 유도체의 헤테로 방향족고리(R_1) 치환체중 치환 phenyl backbone(R_2)들의 구조변환에 따른 벼도열병균(*Pyricularia oryzae*)과 토마토역병균(*Phytophthora infestans*)에 대한 *in vivo*에서의 항균활성 관계(SAR)를 3-D QSAR방법인 비교분자장 분석(CoMFA)으로 해석하였다. 두 식물병원균에 대한 항균활성을 설명하는 CoMFA결과는 2-D QSAR에서 검토된 결과와 유사한 경향이었으며 입체효과(Es)와 전자효과(σ)로 설명할 수 있었다. 즉, 벼도열병균은 aryl group에 bulky한 치환기(Es>0)가 도입되어야 하며 β탄소원자의 양하전이 증가할수록 강한 항균활성을 나타낼것으로 기대되었다. 반면, 토마토역병균의 경우에는 aryl group에 체적이 작은 치환기가 도입될수록, 그리고 β탄소원자의 양하전이 감소할수록 강한 항균활성을 나타낼 것으로 기대 되었다. 또한, 입체효과와 전자효과를 등고도로 나타낸 CoMFA결과가 기존의 2-D QSAR보다 항균활성에 미치는 화합물의 구조적 요인을 보다 구체적으로 제시할 수 있었다. (1998년 4월 23일 접수, 1998년 7월 30일 수리)

Key words : bis - aromatic α,β - unsaturated ketone derivatives, fungicidal activity, CoMFA.

서 론

2-Acylfuran 유도체들은 의약이나 농업용 약제를 합성하기 위한 중간체로 유용(Kondo 등, 1988)하게 이용되고 있으며, 2-furyl 방향족 α,β-불포화 케톤 유도체들은 곤충 기피제(Tsizin 등, 1975)로 이용된 바 있다. 또한, nitrofuran은 의약용 항미생물제제와 수의약품으로 사용(Debnath 등, 1993)되었으나 돌연변이성 및 발암성 등 부작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 nitrofuran은 그 중요성이 인정되어 활발하게 연구 대상이 되고 있다. 저자들은 iminothiazole carboxanilide(성 등, 1997b)를 위시하여 일련의 benzotriazole 유도체(성 등, 1990, 1992, 1994, 1995 및 1997a)등 다수의 새로운 화합물에 대한 구조변화에 따른 항균활성과 제초활성(성 등, 1991)관계에 대하여 연구한 바 있다.

본 연구에서는 기질물질로 헤테로 방향족 고리(R_1)가 2-thienyl기와 2-furyl기로 고정된 일련의 1-(2-thienyl)-3-phenylpropenone 및 1-(2-furyl)-3-phenylpropenone에서 phenyl backbone(R_2)의 치환기 변환에 따른 비스 방향족 α,β-불포화 케톤 유도체들을 사용하여(성 등, 1998), *in vivo*에서 벼도열병균(*Pyricularia oryzae*)과 토마토역병균(*Phytophthora infestans*)에 대한 항균활성을 측정한 다음 이들 유도체들의 입체구조 변화에 따른(Cramer 등, 1988) 항균활성에 미치는 비교분자장분석(CoMFA) 결과(Kubinyi, 1993b)에 관하여 보고하고자 한다.

* 연락저자

재료 및 방법

기질과 항균활성

기질 화합물은 이전의 보고(성 등, 1998)에서 다룬 비스 방향족 α,β-불포화 케톤 유도체중 방향족 고리(R_1)가 2-thienyl (1~10)과 2-furyl 치환체(11~26)를 이용하였다. 대상 균주로는 한국화학연구소 생물활성 스크리닝 실험실에서 분리 동정한 벼도열병균(*Pyricularia oryzae*)과 토마토역병균(*Phytophthora infestans*)을 사용하였다.

항균활성 검정은 이전의 방법 (KRICT, 1989 및 1993)에 따라 측정하고 Dose-Effect analysis프로그램 (Chou 등, 1987)에 적용하여 균사생장을 50% 저해하는 항균활성

값(obs. pI_{50})을 유도체별로 구하여 자료화 하였다(표 1).

비교분자장 분석(CoMFA)

계산은 SYBYL(Ver. 5.41) 분자모델링 프로그램(Tripos, Inc. 1997)을 그리고 각 화합물들의 최적화는 PM3 방법인 MOPAC(Stewart, 1987)을 사용하였다.

CoMFA는 SYBYL 프로그램중 QSAR 옵션을 이용하여 실시하였으며 각 화합물들의 전위에너지장은 2.0Å의 격자내에서 계산하였다. 각각의 격자 점들에서 coulombic 정전기 전위를 계산하기 위하여 각 분자의 입체 및 소수성 그리고 정전기적 위치에너지는 methyl group과 H_2O 그리고 Proton(H^+) probe에 의하여 둘러싸여진 상이한 grid point에서 실행(Goodford, 1985)되었다. Probe(탐침)의 전하는 H^+가 1.0, 그리고 H_2O및 methyl group은 각각 0.0 이었다. 각 분자내 원자 전하는 PM3방법으로 최적화된 구조의 것을 이용하였으며 매질의 유전상수는 1.0으로 하였다.

부분 최소제곱(PLS) 계산

선택된 probes와 분자간의 상호작용 에너지는 부분 최소제곱(PLS) 방법(Lindberg 등, 1983)으로 보정하였다. 이 과정에서 독립격자 변수와 logP는 선형조합으로 변환됨으로써 변수들은 직교성(orthogonal)화 되며 계산값들의 표준 편차값은 교차확인(cross-validation) 시험을 통하여 최소화 시켰다. 분석결과는 사용된 latent variable의 수를 나타내는 상관식으로 표현하였고, 격자 교차점에서 field descriptor의 계수들을 등고도(contour diagram)를 바탕으로 하여 음영으로 나타내었다.

CoMFA 결과식에서 n은 회귀분석에 사용된 화합물의 수이며 r은 상관계수, r^2은 결정계수, s는 표준편차, F값은 회귀와 잔여 variences 사이의 비율이며 PRESS (Predicitive Residual Sum of Squares)는 교차확인의 표준편차이다. 기질의 LogP 값은 CLOGP 프로그램(Ver. 3.53)으로 계산하였으며(Leo, 1988) SAR식중 소수성 효과를 설명하기 위한 독립변수로 사용하였다.

결과 및 고찰

기질 분자의 구조 변화와 생물활성 사이의 정량적 구조-활성관계(QSAR)를 설명하는데 있어서 약제에 의한 생물학적 응답은 분자의 전자적(σ), 입체적(Es) 및 소수성(π)적 선형함수의 합으로 상관(Hansch, 1973)되어 있다고 보고되어 있다.

이중에서 입체효과를 나타내는 형태는 classic steric 파라미터와 bulk 파라미터로 구분되며 3D QSAR개념(CoMFA)은 기질 분자의 3차원적 입체 형태에 관련된 자료가 포함되어 있다. 그러므로 2D QSAR과 CoMFA는 여러가지 측면에서 상호 보완적인 관계(Kubinyi, 1993b)에 있으므로 병행(Hansch, 1995)하여 이용하는 것이 바람직하다.

Table 1. Antifungal activities of bis-aromatic α,β-unsaturated ketone derivatives[a] *in vivo* against the two fungi

Comp. No	R2	*P. oryzae*			*P.infestans*		
		Obs.	Cals.[b]	Dev.	Obs.	Cals.[b]	Dev.
1	4-CNPh	3.00	3.03	-0.03	1.80	2.10	-0.30
2	4-ClPh	2.80	-	-	2.75	2.78	-0.03
3	4-NO_2Ph	3.00	3.04	-0.04	2.70	2.73	-0.03
4	4-BrPh	2.85	2.83	0.02	2.85	2.52	0.33
5	3-NO_2Ph	2.95	-	-	2.80	2.92	-0.12
6	4-CH_3OPh	2.60	2.63	-0.03	3.10	2.98	-0.02
7	4-CH_3Ph	2.80	2.59	0.21	3.00	3.06	-0.06
8	Ph	3.10	3.15	-0.05	2.00	1.89	0.11
9	4-$PhCH_2OPh$	3.30	3.32	-0.02	1.70	1.68	0.02
10	4-FPh	2.85	-	-	2.80	-	-
11	4-CNPh	3.00	2.88	0.12	2.65	2.32	0.33
12	4-ClPh	2.85	2.79	0.06	2.70	2.44	0.26
13	4-NO_2Ph	2.75	-	-	2.80	2.59	0.21
14	4-BrPh	2.70	2.64	0.06	-	2.51	-
15	3-NO_2Ph	3.15	3.19	-0.04	2.20	2.23	0.03
16	4-CH_3OPh	2.75	2.73	0.02	2.75	2.95	-0.20
17	4-CH_3Ph	2.25	2.37	-0.12	2.90	2.93	-0.03
18	Ph	2.70	2.77	-0.07	1.70	2.16	-0.46
19	4-$PhCH_2OPh$	2.85	2.88	-0.03	2.00	2.03	-0.03
20	2-ClPh	2.90	-	-	2.95	2.89	0.06
21	4-FPh	2.80	2.84	-0.04	2.80	-	-
22	2,6-Cl_2Ph	2.80	-	-	3.20	3.22	-0.02
23	2,6-F_2Ph	2.50	-	-	2.55	2.36	0.19
24	2-CH_3Ph	2.25	-	-	2.85	2.84	0.01
25	2-BrPh	2.70	-	-	3.00	3.06	-0.06
26	2-FPh	2.95	-	-	2.40	2.28	0.12

[a] $R_1(CO)CH=CHR_2$, R_1=2-thienyl:1~10 & R_1=2-furyl:11~26,

[b] The values were calculated according to the eq. 1 and 2 in Table 2.

Table 2. CoMFA correlation statistics for the fungicidal activities(pI_{50}) *in vivo* against the two fungi

pI_{50} = A+[CoMFA steric and electronic terms]

Fugi	Eq. No	A	CNa)	n	Conventional			Predicted[b]		RC[c]	
					s	r^2	F	s	r^2	Sterric	Elec.
Pyricularia oryza	1	2.970	3	16	0.081	0.921	F3,12=46.6	0.221	0.416	0.532	0.468
Phytophthora infestans	2	2.021	5	24	0.215	0.827	F5,18=17.2	0.352	0.536	0.599	0.401

[a]Number of components, [b]Obtained from the leave-one-out cross-validation, [c]Relative contribution.

방향족 고리(R_1)로서 2-thienyl과 2-furyl 치환체에 따라 벼도열병균과 토마토역병균에 대한 항균활성값을 표 1에 정리하였다.

벼도열병균의 경우, 최적의 latent variable은 3(cross-validated r=0.645)이었으며 PLS 분석으로 16종의 기질 유도체들에 대한 최적의 (1)식을 구하여 표 2에 정리하였다. 벼도열병균에 대한 항균활성에 미치는 steric과 electrostatic field descriptor의 상대적인 기여도(RC)는 약 53.2 : 46.8이었으며 전자효과(σ)보다는 입체효과(Es)에 보다 의존적 이었다.

항균활성을 설명하는 CoMFA결과식인 (1)식의 관계를 나타낸 steric contour(그림 1 A)는 R_2 고리에 bulky한 치환기가 있을 때 항균활성이 증가 될 것임을 나타내었다. 또한, electronic contour(그림 1 B)는 propenone 가지에 위치한 β탄소의 양하전이 클수록 항균활성을 증가시킬 것임을 보여주었다.

토마토 역병균의 경우에 최적의 latent variable은 5 (cross-validated r=0.732)이었으며 24종의 기질 유도체들에 대한 최적의 (2)식을 구하기 위하여 corss-validation을 사용하지 않고 PLS 분석을 실시하였다. Steric과 electrostatic field descriptor의 상대적인 기여도는 59.9 : 40.1이었으며 항균활성은 σ효과보다는 E_S효과에 의존적이었다. 즉, (2)식의 관계를 나타낸 steric contour(그림 2 A)는 R_2 고리에 bulky한 치환기가 있을 때 항균활성이 감소될 것임을 보이고 있으며 electrostatic contour(그림 2 B)는 propenone 가지에 위치한 β-탄소의 양하전이 작을수록 항균활성을 증가시킬 것임을 보이고 있다. 이와 같이 CoMFA에서도 2D QSAR에서 사용되는 체적 파라미터나 STERIMOL(Verloop, 1977)과 Es같은 입체 파라미터들이 효과적으로 응용(Kim, 1992)되고 있다.

이러한 경향은 2D QSAR(성 등, 1998)에 관한 연구 결과와 같이 헤테로 고리(R_1)치환체의 변환에 따른 항균활성은 전자효과(R 및 F)와 입체(E_S 및 L_1)효과에 의존적임을 나타내었다.

이때 벼도열병균의 경우에는 σ항의 계수값이 양의 값을 나타내는 것은 전자끌게($\sigma>0$)가 치환될 때, 반면에 토마토역병균의 경우에도 같은 경향이었으나 전자밀게($\sigma<0$)가 치환된 경우에 항균활성을 향상시킬 것이라고 믿어진다.

또한, Es항의 계수의 부호(Es<0)는 크기가 작은 치환기가 치환될 때 기질과 수용체 사이의 입체상보성이 좋아지므로 항균활성이 증진될 것임을 설명하고 있다.

따라서 R_1을 포개어 놓고 2-thienyl과 2-furyl 과는 상관없이 생리활성에 미치는 분자전체의 3차원적 최적조건을 구명하고자 한 것으로 R_2의 소수 화합물에 대한 치환기 효과보다는 R_2전체에 적용될 수 있는 내용을 설명하였다.

결과적으로 50여종의 비스 방향족 α,β-불포화 ketone 유도체에 대한 2D-QSAR(성 등, 1998)과 CoMFA 분석 결과는 모두 같은 경향으로 기질 유도체의 항균활성은 전자 효과(σ)에 비하여 입체효과(Es)에 더욱 의존적이었다.

특히, 생체내 약제의 수송에 관여하는 자유에너지의 척도인 소수성에 대한 의존성이 나타나지 않는 것은 이들 유도체들이 항균제로써 이미 충분한 소수성(Cal. Log*P*=3.70 내외)을 가지고 있기 때문(Hansch 등, 1964)으로 설명된다. 보다 개선된 항균활성 물질을 얻기 위해서는 이상의 결과를 바탕으로 새로이 합성된 기질 화합물의 구조 변화에 따른 항균활성에 관한 연구가 이루어져야 할 것이다.

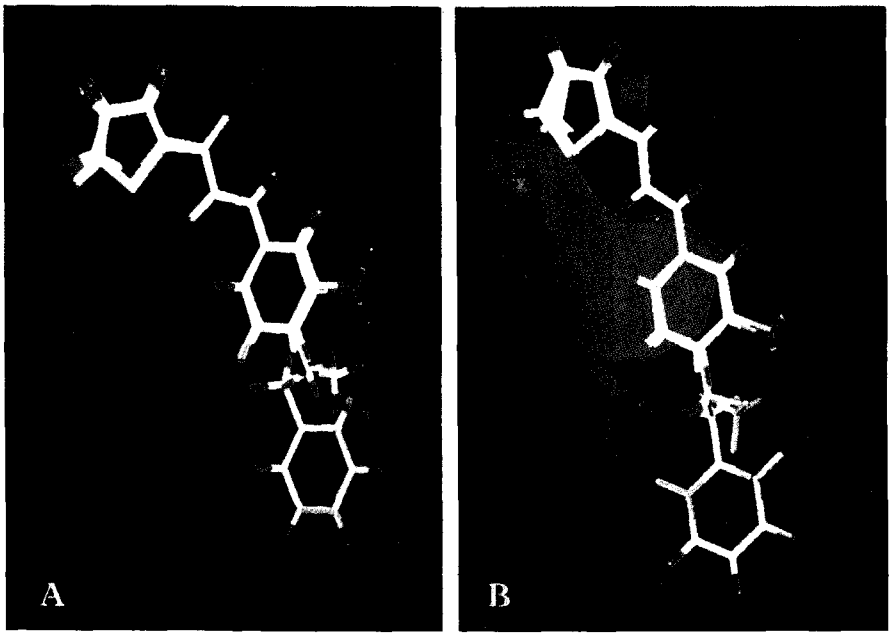

Fig. 1. Steric(A) and electrostatic(B) contour plot of the correlation eq 1. (Green:Regions where a higher steric interaction increase the activity. Yellow:Regions where a higher steric interaction decrease the activity. Blue:Regions where a more positive electrostatic interaction increase the activity. Red:Regions where a more negative electrostatic interaction increase the activity).

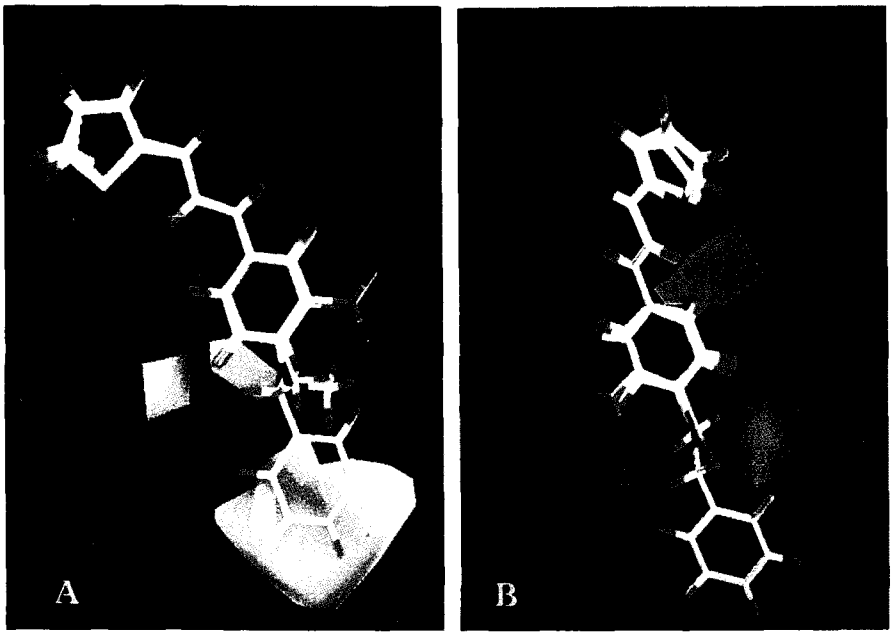

Fig. 2. Steric(A) and electrostatic(B) contour plot of the correlation eq 2. (Green:Regions where a higher steric interaction increase the activity.

인용문헌

Chou, J. and T. C. Chon (1987) Dose-Effect Analysis with Microcomputers, Biosoft Cambridge, U.K.

Cramer, R. D,Ⅲ., D. E. Patterson and J. D. Brunce (1988) Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins, J. Am. Chem. Soc. 110:5959～5967

Debnath, A. K., C. Hansch, K. H. Kim and Y. C. Martin (1993) Mechanistic interpretation of the genotoxicity of nitrofurans(antibacterial agents) using quantitative structure -activity relationships and comparative molecular field analysis, J. Med. Chem., 36:1007～1016.

Goodford, P. J. (1985) A computational procedure for determining energectically favorable binding sites on biologically important macromolecules, J. Med. Chem. 28:849～857.

Hansch, C. and A. R. Steward (1964) The use of substituent constants in the analysis of the structure activity relation in penicillin derivatives, J. Med. Chem. 7:691～694.

Hansch, C. (1973) Structure-Activity Relationship., C. J. Cavallito ed., Pergamon Press. pp.75～165.

Hansch, C. and T. Fujita (1995) Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry, ACS. Washington. D.C.

Kim, K. H. (1992) 3D QSARs: Investigation of steric effects with descriptors directly from 3D structure using a CoMFA approach. Quant. Struct-Act. Relat., 11:453～460.

Kondo M., M. Minami, S. T. Kai, Higashi. and Y. Ueda (1988) Process for producing 1-acylfuran derivatives, useful as intermediates for medicines or agrocultural chemicals. Eur. Pat Appl. Ep. 268820.

KRICT (1989) Screening system for new agrochemicals, pp.385～513, Ministry of Science Technology(MOST).

KRICT (1993) Screening system for new agrochemicals, pp.220～286, MOST.

Kubinyi, H. Ed.(1993a) "3D QSAR in drug design", Theory. Method and Applications, ESCOM Leiden.

Kubinyi, H.,(1993b) "QSAR:Hansch analysis and related approaches", pp.1～13, VCH, New York.

Leo, A. (1988) Medicinal Project Pomona College, Elaremont, CA 91711.

Lindberg, W., J. A. Persson., S. Wold (1983) Partial least-squares method for spectrofluirometric analysis of mixtures of humic acid and ligninsulfonate., Anal. Chem. 55:643～648.

Michitada, K., M. Masayoshi, K., H. Takyuki and Y, Yuji, (1987) Process for producing 2-acylfruan derivatives, European Patent. 871 153 380. 3.

Stewart, J. J. P. (1987) MOPAC(Ver, 6. QLPE No. 455) (The optimization for the ground state was carried out using EF option).

Tsizin. Yu. S., N.B. Karpova., A.A. Potapov., V.V. Vladimirova and E.V. Sazonova (1975) New repellents from the group of α,β-unsaturated ketones. Chem. Abs., 83:73399K. 218.

Tripos, Inc., (1997) SYBYL/QSAR, Ch. 6. pp.2232～2241., Hanley, Rd., Suite 303, St. Louis, MO 63144.

Verloop, A. and C. D. Ferrell (1977) Benzoylphenyl ureas - A new group of larvicides interfering with chitin deposition. pp.237～270 in Pesticide Chemistry in the 20th Century ACS. Symp. Ser. No. 37. ACS. Washington. D.C.

성낙도, 임치환, 최우영, 고동성, 권기성 (1990) 새로운 항균제로서 1-(phenoxymethyl)benzotriazole 유도체의 합성과 정량적 구조-활성관계(QSAR) 분석. 한국농화학회지 33(3):231～238.

성낙도, 박현주, 변종영, 박승희 (1991) benzotriazol계 유도체의 제초활성과 분자설계, 한국농화학회지 34(3): 287～294.

성낙도, 김경훈, 최우영, 김홍기 (1992) N-[1-(benzotriazol-1-yl)aryl]arylamine 유도체의 항균성과 정량적 구조-활성관계 (QSAR). 한국농화학회지 35(1):14～22.

성낙도, 강희덕, 맹주양, 신동린 (1994) 3-(치환(x)-phenyl)-1-(2-furyl)propenone 유도체의 항균 활성. 한국농화학회지 37(4):287～294.

성낙도, 임치환, 이경준 (1995) N-[1-(benzotriazol-1-yl) alkyl] aniline 유도체의 결정구조와 항균활성. 한국농화

학회지 38(4):359~363.

성낙도, 유성재, 성민규, 김대황 (1997a) 새로운 N-치환 benzotriazol-1-yl 유도체의 항균활성에 미치는 치환기 효과. 한국농화학회지 40(1):80~84.

성낙도, 유성재, 임치환, 남기달, 한호규 (1997b) Imino-thiazole carboxanilid 유도체의 항균활성에 관한 2d-phenylimino group의 영향. 한국농약과학회지 1(1):7~12.

성낙도, 유성재, 김태영, 옥환석 (1998) 비스-aromatic α, β-불포화 케톤 유도체중 2-thienyl 및 2-furyl 치환체의 항균활성에 관한 치환 phenylbackbone의 영향. 한국농약과학회지, 2(2):22~28.

Comparative molecular field analysis(CoMFA) on the fungicidal activity of 2-thienyl and 2-furyl substituents in bis-aromatic α,β-unsaturated ketone derivatives

Nack-Do Sung*, Seong-Jae Yu, Chi-Hwan Lim, and Miki Akamatsu[1] (*Division of Applied Biology & Chemistry, Chung-nam National University, Taejon 305-764, Korea, and [1]Division of Science and Technology of Regional Environment, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-01, Japan*)

Abstract : Bis-aromatic α,β-unsaturated ketone derivatives represented as substrate(S) were synthesized and their fungicidal activities *in vivo* against rice blast(*Pyricularia oryzae*) and tomato leaf blight(*Phytophthora infestans*) were examined with the quantitative structure activity relationships(QSAR) using 3D QSAR, comparative molecular field analysis (CoMFA). The 3D CoMFA results and those of 2D QSAR were compared and the results reveal that both results show similar trend. The two important factors, steric and electronic, contribute toward the activity. We assumed that fungicidal activity for rice blast was greatly improved by increasing with positive charge of β-carbon and introduction of bulky derivatives into R_2 group, while that for tomato leaf blight was improved by decreasing the positive charge of β-carbon and introduction of smaller molecular derivative into R_2 group. The CoMFA analyses clearly demonstrate its potential in unraveling the steric and electronic features of the molecules through contour maps.

---

* Corresponding author