

3-phenylisoxazole 및 3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one 유도체의 합성과 살균활성에 관한 구조-활성관계

성낙도* · 유성재 · 이희철¹

충남대학교 농과대학 응용생물화학부*, 동부정밀화학(주) 충청기술보급센터¹

요약: 기질 물질로서 일련의 3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one (A) 및 3-phenylisoxazole (B) 유도체는 친핵성 첨가-제거반응 (Ad_{N-E})으로 (A)가 (B)보다 높은 수율로 합성되었으며 정량적인 구조와 저항성(RPC) 및 감수성(SPC) 고추역병균(*Phytophthora capsici*)에 대한 살균 활성과의 관계(QSAR)를 검토하였다. 두 균주에 대한 살균활성은 공통적으로 benzoyl고리에 결합된 치환기의 폭인 B_2 상수의 적정값(약 4.0 Å)에 의존적(RPC: $(B_2)_{opt.}=3.74 \text{ \AA}$ 및 SPC: $(B_2)_{opt.}=3.99 \text{ \AA}$)이었으며 치환기가 RPC에는 전자끌개로 작용한 반면에 SPC에는 전자 끌개로 작용하지 않았다. Free-Wilson 분석결과, RPC 및 SPC, 두 균주에 대한 살균활성은 (A)가 (B)보다 컸으며 할로젠과 acetyl-치환체가 기여하였고, RPC에는 cyano, methoxy 및 methyl-치환체 등이 선택적으로 기여하였다. (2001년 8월 3일 접수, 2001년 12월 26일 수리)

Key words: 2-benzoyl-3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-ones, 3-phenyl-5-phenylcarbonyloxyisoxazoles, Resistant & sensitive *Phytophthora capsici*, QSARs.

서 론

살균제 중에서 가장 많은 비율을 차지하는 azole계 화합물인 hymexazol은 isoxazole을 기본 구조로 하는 약제이며(Kurkov와 Rafael, 1985; Summers와 Byrde, 1968) 대부분의 3-isoxazolin-5-one 유도체들에 대한 살균활성은 3-alkyl-치환체에 대하여 탐색되었고(Summers, 1968) isoxazolone 그 자체보다는 isoxazole의 4-acyl치환체로서 다양한 생물활성에 관하여 일부 선택성이 알려져(Sakhaikar 등, 1995) 있다.

본 연구에서는 3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazole (Kurkov와 Rafael, 1985)의 N 및 C 원자에 대한 acyl 화 반응으로 각각 O-acyl 및 N-acyl-치환기가 도입된 2-benzoyl-3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one 유도체 (A)와 3-phenyl-5-phenylcarbonyloxyisoxazole-유도체 (B)를 각각 합성하고 설명된 바 없는 benzoyl기의 치환기 변화에 따르는 정량적인 구조와 metalaxyl 살균제에 대하여 저항성(95CC7303) 및 감수성(95CC7105)을 나타내는 고추역병균(*Phytophthora capsici*)에 대한 살균 활성과의 관계(QSAR)(Kubinyi, 1993)를 검토하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기

기질 화합물들의 합성에 사용된 ethyl benzoylacetate, hydroxylamine 및 benzoic acid 등, 유도체들은 모두 Aldrich제나 Fluka제의 1급 시약을 사용하였으며 methylene chloride, ethyl acetate, n-hexane 및 acetone 등 기

타 용매들은 필요에 따라 정제하여 사용하였다.

합성물의 구조 확인을 위하여 IR spectrum은 Perkin-Elmer 1420 모델의 IR spectrophotometer로, 그리고 NMR spectrum은 tetramethylsilane(TMS)를 내부 표준물질로 한 실온의 deuteriochloroform 또는 deuterio-dimethylsulfoxide 용매 중에서 Bruker AM-300 model (300 M Hz)의 proton NMR spectrometer로 측정하였으며 chemical shift는 δ (ppm) 값으로 표기하였다. 그리고 화합물의 녹는점은 electrothermal melting point apparatus(MEL-TEMP II, USA)로 측정하였으며 보정하지 않았다. 화합물의 분리는 70~230 mesh의 silica gel이 채워진 column chromatography와 재결정 방법으로 그리고 반응의 진행에 대한 확인을 위하여 TLC는 precoated silica gel plate(Merck Co.)를 각각 사용하였다.

3-Phenyl-4,5-dihydroisoxazol-5-one: 3 ml의 methylene chloride와 40 ml의 증류수를 혼합한 용액에 ethyl benzoyl acetate, 2.5 g(13 mM)과 hydroxylamine, 0.86 g (36 mM)을 녹이고 0°C에서 sodium hydroxide, 0.52 g(13 mM)을 넣어 1 시간동안 저어 주었다. 1 시간 후에 TLC (ethyl acetate:n-hexane=1:4)상에서 생성물을 확인($R_f=0.40$) 한 후, methylene chloride와 증류수로 수 차례 추출(Beccalli와 Marchesini, 1991a; 1991b)하였다. 유기층을 magnesium sulfate로 건조하고 여과한 후에 감압, 농축하여 ethyl acetate:n-hexane(1:10)의 용매조건에서 column chromatography로 분리하여 흰색 고체의 3-phenyl-4,5-dihydroisoxazol-5-one, 1.92 g(수율:92%)을 합성(Kurkov와 Rafael, 1985)하였다. M.p.=117~118°C, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 3.8(s, 2H, CH_2), 7.2~7.8(m, 5H, phenyl), IR(KBr):(C=O) 1710, (C=N) 1670 Cm^{-1} .

*연락처

2-Benzoyl-3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one(1) 및 3-phenyl-5-phenylcarbonyloxyisoxazole(13): Benzoic acid, 2.2 g(18 mM)을 methylene chloride 20 ml에 녹이고 thionyl chloride, 4.28 ml(36 mM)를 가하여 90°C에서 1 시간 30분 동안 환류시켜 합성한 benzoyl chloride, 1.86 ml(수율: 90%)를 다시 methylene chloride 30 ml에 녹이고 3-phenyl-4,5-dihydroisoxazol-5-one, 3 g(18 mM)과 sodium bicarbonate를 가하여 녹인 다음에 상온에서 약 1 시간 동안 교반하였다. 한 시간 후, TLC 상에서 생성물을 확인(1: $R_f=0.82$ 및 13: $R_f=0.45$, ethyl acetate: *n*-hexane=1:4)한 다음에 증류수로 수 차례 세척하고 유기층을 magnesium sulfate로 건조하였다. 그리고 여과한 후에 감압 농축하여 column chromatography로 분리하여 1(A), 1.92 g(수율: 44%) 및 13(B), 1.41 g(수율: 30%)을 합성하였다. 1: M.p.=156~157°C, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 5.70(s, 1H, CH), 7.20~8.00(m, 10H, ph.), 13: m.p.=104~105°C, $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: 6.60(s, 1H, CH), 8.00(m, 10H, ph.). 기타 화합물 2~12 및 14~20 역시, 위와 같은 방법으로 합성하고 기기 분석 결과로부터 구조를 각각 확인(이, 2001)하였다.

살균활성 검증

살균활성 검증대상 균주는 오염되지 않고 다른 약제의 내성이 없는 metalaxyl에 대한 저항성(resistant)과 감수성(sensitive)을 나타내는(*Georgopoulos*와 *Grigoriu*, 1981) 2종의 고추역병균(*Phytophthora capsici*: RPC, 95CC7303 및 SPC, 95CC7105)을 충남대학교 응용생물학과에서 분양 받아 상법에 따라 배양하고 살균활성을 검증하였다(이, 2001). 살균활성 값(pI_{50})은 화합물 별로, 서로 다른 4가지 농도에서 각각 3반복 실험의 평균 저해율(%)로부터 얻은 EC_{50} (ppm)값으로부터 산출하고 mole 농도의 $-\log$ 를 취하여 관측된 살균활성 값(Obs. pI_{50})으로 나타내었다.

구조-활성 관계식의 유도

물리-화학 파라미터로서 Hammett의 방향족 치환기 상수, σ 는 문헌(*Hansch*와 *Leo*, 1987)값을 그리고 소수성($\log P$) 상수는 TOPKAT 프로그램(Ver. 5.0)으로 계산하였다(*Health Designs*, Inc.). ϵ_{HOMO} 와 ϵ_{LUMO} 에너지 및 기질 분자 중 carbonyl 탄소 원자의 전하(C_q)는 Hyper-Chem 프로그램(Ver. 4.0)의 PM3 방법으로 최적화한 다음에 계산하였다.

또한, 분자 중 carbonyl 탄소원자에서 benzene 고리상 치환기까지를 포함하는 길이나 폭을 기준으로 한, STERIMOL 파라미터(*Verloop*, 1987), $B_1 \sim B_5$, L/B_1 및 B_1/B_4 (Å)와 MR상수는 MOL2MOL 프로그램(Ver. 3.4)으로 각각 계산하여 자료화하였다.

기질 화합물 A와 B의 benzoyl group상 치환기(Sub.) 변화에 따르는 물리-화학 파라미터와 관찰된 살균활성 값(pI_{50})들은 SAS 프로그램(Ver. 6.12)을 이용하여 *Hansch-Fujita*(*Kubinyi*, 1993) 및 *Free-Wilson*(*Hansch* 등, 1990)식을 각각 유도하고 관련된 통계 값들을 얻었다(이, 2001).

결과 및 고찰

기질 유도체의 합성

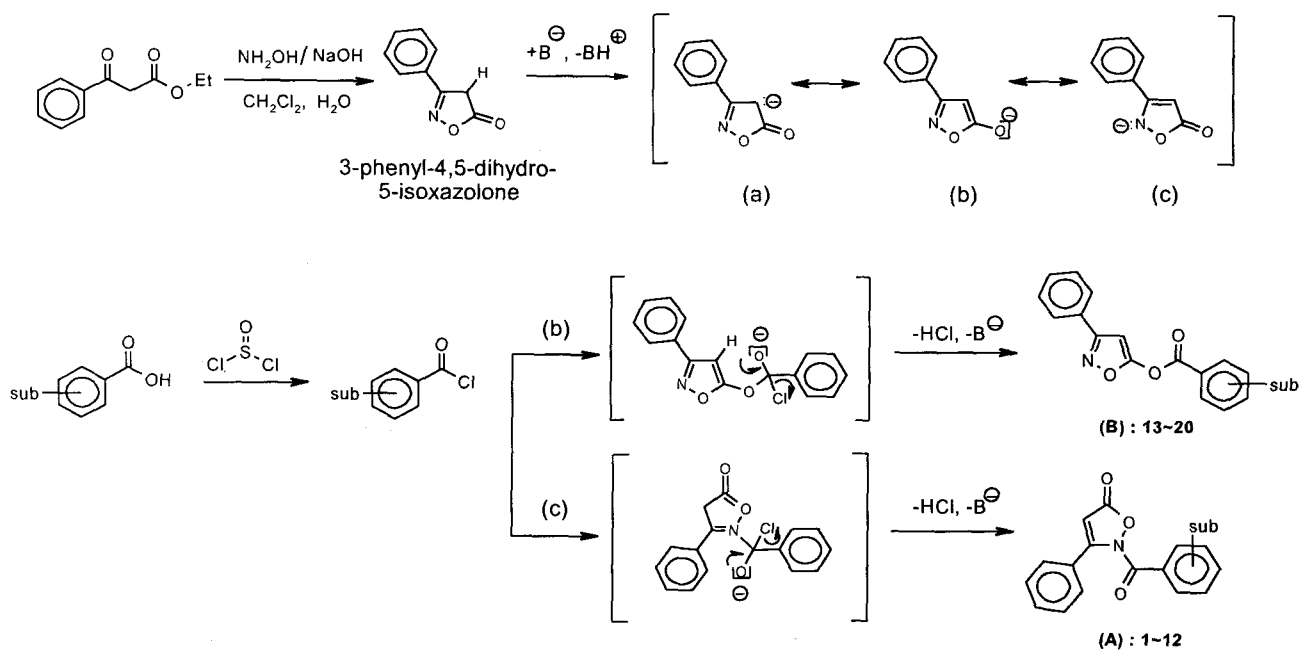
새로운 isoxazol유도체를 합성하기 위하여 우선, 1단계 반응으로 ethylbenzoylacetate와 hydroxylamine을 methylene chloride 중에서 반응시키고 촉매로 sodium hydroxide를 첨가하여 3-phenyl-4,5-dihydroisoxazol-5-one을 합성한 후(*Kurkov*와 *Rafael*, 1985), 2단계 반응으로 benzoic acid 유도체를 thionylchloride로 염소화시켜 얻어진 benzoyl chloride 유도체와의 반응으로 2-benzoyl-3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one(A)와 3-phenyl-5-phenylcarbonyloxyisoxazol(B)유도체들이 동시에 합성되었으며(*Beccalli*와 *Marchesini*, 1991b) 그 과정을 Scheme 1에 정리하였다.

이들 (A)와 (B), 두 화합물이 2단계 반응으로 함께 합성되는 이유는 다음과 같다. 즉, *N*-acyl-치환체 (A)는 3-phenylisoxazol-5-one고리 중 carbonyl group 인접 α 탄소원자에 결합된 수소 원자가 염기에 의하여 이탈하여 생성된 공명 안정화된 conjugate base(CB) 중 (c)의 N 원자가 친핵체로 치환-benzoyl chloride의 carbonyl 탄소원자를 공격하여 사면체(sp^3) 중간체를 생성한 다음에 chloro group이 이탈되는 친핵성 첨가-제거반응(*Ad_NE*)(*Patai*, 1964)으로 생성된다. 반면에 *O*-acyl-치환체 (B)는 (CB) 중 (b)의 carbonyl O 원자가 친핵체로 작용하여 사면체 중간체를 경유하는 일련의 단계를 거치는 반응으로 생성되므로 공명 기여구조 (b), (c)가 각각 친핵체로 작용하며 공통적으로 전자끌개($\sigma > 0$)에 의하여 촉진되는 반응이므로 반응상수가 양($\rho > 0$)의 값이었다.

논리적으로 isoxazol-5-one 고리상 음 하전은 carbonyl O 원자, (b)가 N 원자 (c)보다 클(O>N) 뿐만 아니라, 입체장에는 돌출한 carbonyl O 원자가 N 원자보다 작았으므로(O<N) *O*-acyl 치환체 (B)가 더 많이 생성될 것으로 예상되었다. 그러나 대체로 수율(A: yield (%)=1.91 $\Sigma\sigma$ +38.0 및 B: yield (%)=1.95 $\Sigma\sigma$ +29.0)은 예상과 달리 (A)가 (B) 보다 약간 높은(A>B) 경향이었던(이, 2001). 이 같은 이유는 다음과 같이 설명된다. 즉, 친핵성 중심에 인접한 α 위치에 비 공유 전자쌍을 가지고 있는 친핵체는 α -효과(*Isaac* 등, 1987)에 의하여 약한 염기이지만, 비정상적으로 강한 전자주개로 작용하여 친핵 반응성을 나타낸다. 따라서 isoxazol-5-one 고리상 carbonyl O 원자 (b)는 인접 α 위치에 비 공유 전자쌍을 가지고 있지 않은 반면에 N 원자 (c)는 α 위치에 비 공유 전자쌍을 가지고 있는 O 원자가 존재한다. 그러므로 (c)는 (b)보다 염기도는 작으나(O>N) 친핵성도가 크기 때문에(O<N) 본 반응은 친핵성도가 입체효과보다 다소 크게 영향을 미치는 반응으로 설명된다.

두 균주에 대한 살균활성

고추 역병균(PC)에 대한 metalaxyl 등의 약제는 식물체 내에 침투 이행되어(*Dekker*, 1977) RNA polymerase 활성 저해 및 ribosomal RNA의 합성을 저해하여 결국 단백질의 합성을 저해(*Gerritsms* 등, 1988)하는 것으로 알려져 있다. 여기에서는 침투성 살균제인 metalaxyl에 대하여 감수



Scheme 1. Synthetic pathway via nucleophilic addition-elimination ($\text{Ad}_{\text{N-E}}$) mechanism of 3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolone reacting with a sub-benzoyl-chlorides to give A & B.

성과 저항성을 발현(Erwin 등, 1996)하는 SPC와 RPC균을 사용하였으며 metalaxyl 및 기질 화합물 별로 관찰된 살균 활성(Obs. pI_{50})과 구조-활성관계(SAR)식으로부터 계산된 살균활성(Calc. pI_{50}) 및 이들 활성 값들 사이의 차이(Dev.) 그리고 기질 화합물의 녹는점들을 표 1에 정리하였다.

여기에서 기질화합물 (S)의 관측된 살균활성(obs. pI_{50})은 화합물 (A), (B)를 막론하고 각각 3.67~4.16(RPC)과 3.63~4.17(SPC) 범위이었고 두 균주에 대하여 3,4-dichloro-치환체(3), 4-bromo-3-methyl-치환체(11) 및 3,5-dimethoxy-치환체(19) 등이 제일 높은 살균활성을 보였다. 즉, RPC에는 11이 그리고 SPC에는 19가 제일 높은 살균활성을 나타낸 반면에 공통적으로 비(H) 치환체 1(A) 및 19(B)는 두 균주에 대하여 제일 낮은 살균활성을 나타내었다. 또한, 관측된 값들을 근거로 한 (A), (B) 화합물 별 RPC와 SPC간 살균활성은 대략적인 비례관계를 보임으로서 선택성의 경향은 보이지 않았다.

일반적으로 살균 활성을 발현하려면 SPC균에는 저약량, 그리고 RPC균에는 고약량이 요구($\text{EC}_{50}=\text{RPC}>\text{SPC}$)될 것이라는 가정 하에 치환기 별로 살균활성 값을 비교하였으나 일관성이 관측되지 않았다. 그러나 여기에서 다른 기질 화합물들의 살균활성이 특히, metalaxyl($\text{pI}_{50}=\text{SPC}: 6.75$ 및 $\text{RPC}: 3.61$)에 저항성을 나타내는 RPC의 경우에 비하여 모두 높은 경향을 나타내었다는 사실은 metalaxyl의 구조와 반응성이 여기서 다른 기질 화합물과 다르기 때문으로 판단된다.

구조-살균활성 관계

저항성 고추역병균, RPC에 대한 살균활성을 설명하기 위하여 기질로서 benzoyl기 이외의 부분이 동일하다는 가정 하에 (A), (B)에 의한 SAR를 분석한 Hansch-Fujita식

(Kubinyi, 1993) (1)에 의하면 살균활성은 입체효과를 설명하는 STERIMOL 파라미터로서 B_2 상수에 관한 2차식의 관계를 나타내므로 주로 B_2 상수의 적정값($B_{2(\text{opt})} = 3.74$ (A)에 의존적이었다. 또한, 부수적으로 MR의 상수의 계수가 양($\text{MR}>0$)임을 고려할 때 기질 분자 중 치환기들은 분산력에 의한 결합작용(Hansch 등, 1976)뿐 아니라, 전자 끌개($\sigma>0$)에 의하여 살균활성이 높아질 것이나 이들 변수들의 계수 크기와 낮은 상관성으로 보아 그 영향은 크지 않을 것이다. 또한, (1)식에서 소수성 상수($\log P$)가 포함되지 않은 것은 농업용 살균제의 적정한 소수성 범위가 $\log P=2.00\sim 4.50$ 이며 그 중간 값인 $\log P=3.0$ 부근이 가장 이상적이라는 사실에 근거하여(Hansch와 Fujita, 1995) 기질 물질($\log P=2.61\sim 5.05$)은 이미 충분한 정도의 소수성을 유지하기 때문이다.

$$\begin{aligned} A, B: \text{pI}_{50}(\text{RPC}) = & -0.189(B_2 - 3.74)^2 + 0.021(\pm 0.003)\text{MR} + \\ & 0.104(\pm 0.040)\sigma + 0.104(\pm 0.040), \\ & (n=20, s=0.066, F=11.534 \text{ 및 } r=0.870) \quad (1) \end{aligned}$$

(A)에 대한 살균활성의 변이 중 85%(100 r^2)를 설명하는 식($\text{pI}_{50}(\text{RPC}) = -0.636(B_2 - 4.13)^2 - 0.261(\pm 0.100)\epsilon_{\text{LUMO}} - 7.115(\pm 1.898)$, $n=12$, $s=0.062$, $F=16.264$ 및 $r=0.926$)으로부터 살균활성은 (1)식의 경우와 같이 주로 치환기 폭, B_2 의 적정값 $B_{2(\text{opt})}=4.13$ (A)에 의존적이었으며 전자의 반응성에 관여하는 ϵ_{LUMO} 에너지의 계수가 음의 값이므로 낮은 ϵ_{LUMO} 에너지는 용이하게 전자 수용성일수록 활성의 증가에 기여 할 것으로 설명(Nagata 등, 1979)되었다. (B)의 RPC균에 대한 살균활성의 변이 중 81%(100 r^2)를 설명하는 식($\text{pI}_{50}(\text{RPC}) = -0.061(\pm 0.031)\log P + 0.012(\pm 0.003)\text{MR} + 3.608(\pm 0.101)$, $n=8$, $s=0.04$, $F=9.80$ 및 $r=0.90$)에 의

Table 1. Melting points, observed (obs.) and calculated (calc.) fungicidal activities (pI₅₀) of substrates *in vitro* against two fungi.

No	Sub.	M.P(°C)	RPC ; 95CC7303			SPC ; 95CC7105		
			Obs.	Calc. ^{o)}	Dev.	Obs.	Calc. ^{o)}	Dev.
1 ^{a)}	H	156~157	3.67	3.74	-0.07	3.70	3.74	-0.04
2 ^{a)}	4-Cl	128~129	3.90	3.89	0.01	3.98	3.98	0.00
3 ^{a)}	3,4-Cl ₂	102~103	4.09	4.03	0.05	4.09	4.03	0.05
4 ^{a)}	3,5-Cl ₂	158~159	3.94	3.91	0.02	3.91	3.88	0.02
5 ^{a)}	2,4-Cl ₂	76~77	3.98	4.04	-0.06	3.89	3.95	-0.01
6 ^{a)}	4-CN	138~139	3.75	3.78	-0.03	3.91	3.91	0.00
7 ^{a)}	2,3-(OCH ₃) ₂	94~95	3.95	3.97	-0.02	3.77	3.76	0.00
8 ^{a)}	3,4-(OCH ₃) ₂	109~110	3.92	3.87	0.04	3.85	3.86	-0.01
9 ^{a)}	3,5-(OCH ₃) ₂	124~125	3.78	3.85	-0.07	3.82	3.87	-0.05
10 ^{a)}	3-OCH ₃ , 4-CH ₃	123~124	3.79	3.82	-0.03	3.87	3.85	0.01
11 ^{a)}	4-Br, 2-CH ₃	109~110	4.16	4.00	0.15	4.04	4.00	0.03
12 ^{a)}	2-C(O)CH ₃	115~116	3.97	4.03	-0.67	3.97	3.97	0.00
13 ^{b)}	H	104~105	3.78	3.69	0.82	3.63	3.54	0.08
14 ^{b)}	4-Cl	73~74	3.87	3.82	0.04	3.79	3.82	-0.03
15 ^{b)}	3,5-Cl ₂	114~115	4.01	4.02	-0.01	3.80	3.87	-0.07
16 ^{b)}	2,4-Cl ₂	99~100	3.96	3.98	-0.02	3.80	3.86	-0.06
17 ^{b)}	2,3-(OCH ₃) ₂	72~73	3.93	3.95	-0.02	3.76	3.83	-0.07
18 ^{b)}	3,4-(OCH ₃) ₂	148~149	3.92	3.95	-0.03	3.85	3.87	-0.02
19 ^{b)}	3,5-(OCH ₃) ₂	93~94	4.04	4.01	0.02	4.17	4.16	0.00
20 ^{b)}	3-OCH ₃ , 4-CH ₃	105~106	3.94	3.91	0.02	4.09	3.89	0.19
	Metalaxyl	71~72	3.61			6.75		

^{a)}(A), ^{b)}(B), ^{o)}Calculated value from eq.(1) & ^{o)}Calculated value from eq. (2).

하면 생리활성을 나타내기 위하여 생체막 투과에 관여하는 기질 분자의 소수성이 작을수록(logP < 0) 그리고 MR의 계수가 양의 부호를 나타내므로 입체효과에 의존적으로 (Hansch 등, 1976) 살균활성에 기여하나 그에 따른 영향은 작을 것이다.

감수성 고추역병균, SPC에 있어서도 (A), (B)에 의한 살균활성의 변이 중 82%(100 r²)를 설명하는 (2)식을 분석한 결과, RPC에서와 같이 B₂상수의 적정값 B_{2(opt)}=3.99(Å)에 의존적임을 나타내었다. 뿐만 아니라, 변수들은 계수의 절대값 크기 순서로 carbonyl 탄소 원자의 양 전하(C_q)가 낮을수록, 비대칭 성(L/B₁)이 클수록 그리고 소수성이 증가할수록 활성에 기여 할 것이나 소수성(logP)의 영향은 매우 미진할 것으로 예상되며 그런 (2)식의 관계를 그림 1에 나타내었다.

$$A, B: pI_{50}(SPC) = -0.441(B_2 - 3.990)^2 + 0.003(\pm 0.003) \log P - 10.186(\pm 2.242)C_q + 0.474(\pm 0.080)L/B_1 - 1.380(\pm 1.685),$$

$$(n=20, s=0.072, F=11.090 \text{ 및 } r=0.900) \quad (2)$$

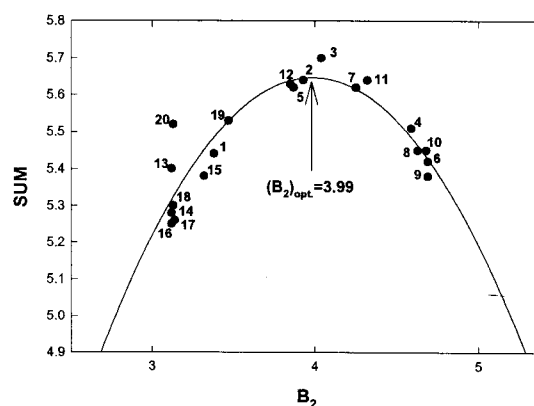


Fig. 1. Relationships between fungicidal activity (obs. pI₅₀) against SPC and B₂ constant of substrates (A & B), SUM=pI₅₀-0.003 logP+ 10.186C_q-0.474L/B₁ (eq. 2).

SPC균에 대한 살균활성의 변이 중 92%(100 r^2)를 설명하는 (A)의 SAR식($pI_{50}(SPC) = -0.525(B_2 - 4.080)^2 - 10.365(\pm 1.44)C_7 - 1.410(\pm 1.075)$, $n=12$, $s=0.034$, $F=34.930$ 및 $r=0.960$)에 의하면 (2)식의 경우와 유사하게 B_2 상수에 의존적으로 적정값 $B_{2(opt)} = 4.08 \text{ \AA}$ 을 가지는 치환기로서 그리고 carbonyl 탄소원자의 전하가 낮을 때 활성이 개선 될 것으로 판단된다. 또한, 살균활성의 변이 중 83%(100 r^2)를 설명하는 (B)의 SPC균에 대한 식($pI_{50}(SPC) = -51.528(\pm 14.525)C_7 + 0.247(\pm 0.067)L + 23.559(\pm 6.324)$, $n=8$, $s=0.09$, $F=12.47$ 및 $r=0.91$)에 의하면 carbonyl 탄소의 양 전하가 낮아질 수록 그리고 치환기의 길이가 클수록($L > 0$) 살균활성이 개선 될 것으로 예상되며 (A), (B) 모두 공통적으로 carbonyl 탄소의 낮은 양 전하가 영향을 미치고 있다. 그러므로 benzoyl기 치환기들은 전자끌개로 작용하지 않고 소수성이나 입체효과를 유발 할 것으로 예상된다.

이상과 같이 Hansch-Fujita식을 검토한 결과, 두 균주에 대한 살균활성은 공통적으로 B_2 상수의 적정값 $B_{2(opt)} = 4.0 \text{ \AA}$ 에 의존적이었으며 치환기가 RPC에는 전자 끌개로 작용한 반면에 SPC에는 전자 끌개로 작용하지 않았다. 또한 (A), (B)를 동일한 구조로 가정한 (1) 및 (2) 식의 상관성이 (A)가 B_2 , (B)는 L 상수 등, 각각에 의한 상관성보다 낮은

Table 2. Structural matrix of substrates used for Free-Wilson analyses.

No	Sub.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1 ^{a)}	H	1									
2 ^{a)}	4-Cl		1								1
3 ^{a)}	3,4-Cl ₂		2							1	1
4 ^{a)}	3,5-Cl ₂		2							2	
5 ^{a)}	2,4-Cl ₂		2						1		1
6 ^{a)}	4-CN			1							1
7 ^{a)}	2,3-(OCH ₃) ₂				2			1	1		
8 ^{a)}	3,4-(OCH ₃) ₂				2				1	1	
9 ^{a)}	3,5-(OCH ₃) ₂				2				2		
10 ^{a)}	3-OCH ₃ ,4-CH ₃				1	1				1	1
11 ^{a)}	4-Br,2-CH ₃					1	1		1		1
12 ^{a)}	2-C(O)CH ₃							1	1		
13 ^{b)}	H	1									
14 ^{b)}	4-Cl		1								1
15 ^{b)}	3,5-Cl ₂			2						2	
16 ^{b)}	2,4-Cl ₂			2					1		1
17 ^{b)}	2,3-(OCH ₃) ₂				2			1	1		
18 ^{b)}	3,4-(OCH ₃) ₂				2				1	1	
19 ^{b)}	3,5-(OCH ₃) ₂				2				2		
20 ^{b)}	3-OCH ₃ ,4-CH ₃				1	1				1	1

^{a)}(A), ^{b)}(B), B: Cl, C: CN, D: OCH₃, E: CH₃, F: Br, G: C(O)CH₃, H: ortho, I: meta & J: para.

경향을 보이고 있음은 (A), (B)가 각각 서로 다른 요인으로 살균활성에 기여하기 때문으로 설명된다.

N-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate 유도체들의 경우에는 metalaxyl 살균제에 저항성을 나타내는 RPC에 대하여 주로 소수성과 적정값($\sigma_{opt} = 0.34$) 크기의 전자 끌개에 의존적이었으며 4-cyanophenol-치환체가 제일 양호한 살균활성($pI_{50} = 5.50$)을 나타낸다는 사실을 보고(성 등, 1999)한 바 있다.

한편, 약물의 치환기와 약리 작용과의 상관관계에서 각 치환기가 변화함에 따라 약리작용에 미치는 영향은 가산적(addition)이라고 간주하고 한 물질이 나타내는 생리작용의 강도(biological response)는 각 치환기가 그 생리작용에 미치는 기여도(Σ)의 합에 전체 평균 생리작용(μ)을 합($BR = \Sigma + \mu$)한 것이라 정의(Hansch 등, 1990)하였다. 이 같은 논리에 따라 RPC와 SPC 두 균주에 대하여 (A), (B) 중 치환기들의 살균활성에 기여하는 대략적인 경향을 알아보기 위하여 각 균별로 structural data matrix(표 2)를 근거로 Free-Wilson 분석을 실시하였다.

한 예로, RPC균에 대하여 (A), (B)를 하나의 기질 유도체로 간주하여 계산된 Free-Wilson 식, (3)에 의하면 대부분의 치환기가 살균활성에 기여하였으며 특히, 할로젠 치환체들이 다른 치환체들보다 활성에 기여하는 경향이었고 benzoyl기상 치환기의 위치 별 영향은 구별되지 않았다.

$$A, B: pI_{50}(RPC) = 0.48(\pm 0.06)Cl + 0.12(\pm 0.05)CN + 0.10(\pm 0.05)OCH_3 + 0.05(\pm 0.09)CH_3 + 0.40(0.11)Br + 0.26(0.10)COC H_3 + 0.01(\pm 0.05)I - 0.01(\pm 0.07)J + 3.71(\pm 0.05),$$

$$(n=20, s=0.08, F=3.47 \text{ 및 } r=0.85) \quad (3)$$

SPC의 경우에는 할로젠 치환체보다 acetyl-치환체의 기여정도가 더 큰 것으로 나타났으며 치환체의 위치에 따른 경향은 비 치환체보다 활성에 기여함을 나타내었다(이, 2001). 여기에서 전자 끌개($\sigma > 0$)인 acetyl이나 할로젠 치환체들이 살균활성에 기여한다는 의미는 (2)식에서 언급된 바와 같이 전자 수수관계에 의한 전자효과 보다는 B_2 상수에 의한 입체효과에 의존적임을 설명하고 있다. 왜냐하면, 이들 치환기들은 모두 전자 끌개들이므로 carbonyl 탄소원자의 양 전하를 증가시킬 것이나 양 전하가 살균활성에 기여하지 않는다는 사실은 전자 끌개로서의 작용보다는 B_2 상수가 적정값(3.99 \AA)에 가까운 값을 유지하기 때문이라는 즉, 전자효과 보다는 입체효과가 살균활성에 더 큰 영향을 미치는 요소임을 알 수 있다.

Free-Wilson 식으로 부터 두 균종의 살균활성에 기여하는 치환기들은 대략 다음과 같은 경향이였다. 먼저, 공통으로 기여하는 치환기로는 chloro, bromo 및 acetyl-치환체 이었고, RPC에만 선택적으로 살균활성을 보이는 치환기로는 cyano, methoxy 및 methyl-치환체 등 이었으나 benzoyl기상 치환기의 위치에는 일관성이 보이지 않았다. 또한 (A), (B) 각각에 대한 식들이 (A), (B)를 합하여 다른 식보다 상관성이 양호한 결과를 보임으로서 (A), (B)는 각각 서로 다른 요인으로 살균 활성에 관여함을 알 수 있었다. 여기에서 (A), (B)에 따른 살균활성에 미치는 물리-화학적 인 요소와 상관성의 정도가 다른 이유는 그들의 입체적인

구조에 따라 수용체와의 상호작용이 다르기 때문이다.

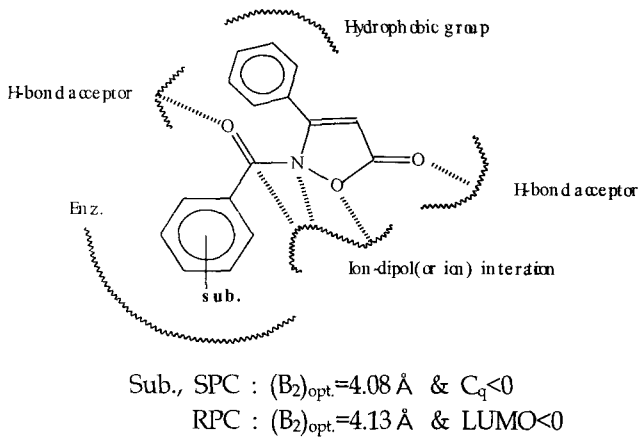


Fig. 2. The structure-activity relationships (SAR) for fungicidal activators, A.

이상과 같은 검토 결과로부터 기질분자의 한 예로 N-acyl-치환체 (A)와 SPC 및 RPC 수용체(Enz.)와의 구조-활성관계(SAR)를 그림 2에 정리하였다.

즉, 기질 화합물은 이미 충분한 정도의 소수성(logP=2.61-5.05)을 유지하므로 3-phenyl group은 소수성으로 영향을 미칠 것이다. 그리고 헤테로 원자들과 carbonyl기는 ion-dipole(또는 ion-ion) 간 상호작용 및 H-결합성으로 작용하여(Draber, 1992) 살균활성이 증진 될 것으로 예상되며 (B)의 경우에도 이와 유사한 관계를 나타낼 것으로 믿어진다.

인용문헌

Beccalli, E. M. and A. Marchesini (1991a) Pyrazine-2(1H)-ones from 3,4-di-substituted 4-aminoisoxazol-5(4H)-ones, *Synthesis* pp.861~862.
 Beccalli, E. M. and A. Marchesini (1991b) Synthesis of heterocyclic ketene N, O-acetals from 5 (2H)-isoxazolones, *Synthesis* pp.912~915.
 Draber, W (1992) Structure-activity studies of photosynthesis inhibitors Ch.13., p293. In *Rational Approaches to Structure, Activity, and Ecotoxicology of Agrochemicals* (ed. Draber, W and T, Fujita) CRC Press Inc., London.
 Dekker, J. (1977) *Systemic Fungicides*, pp.176~197. Longman Group Limited, London.
 Erwin, D. C. and O. K. Ribeiro (1996) *Phytophthora Diseases World-wide*. The American Phytopathological Society, APS press, St. Paul.
 Georgopoulos, S. G. and A. C. Grigoriu (1981) Metalaxyl-resistant strains of pseudoper-peronospora cubensis in cucumber in greenhouses of southern green, *Plant Dis.* 65:729~731.
 Gerritsms, O. C. M., J. Ideler, K. Pie and G. C. M.

Velthuis (1988) Antifungal modes of action of metalaxyl, cyprofuram, benalaxyl and oxadixyl in phenyl amide-sensitive and phenylamide-resistance strains of phytophthora megaspermas f. sp. medicaginis and phytophthora infestans, *Crop. Prot.* 7:347~355.
 Hansch, C. and T. Fujita (1995) *Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry*, ACS Symposium Series 606., Ch. 8., 114, American Chemical Society, Washington, DC.
 Hansch, C., M. Yoshimoto and M. H. Doll (1976) SAR in immunochemistry, 4. Inhibition of complement by benzylpyridinium ions. On the predictive value of correlation equations, *J. Med. Chem.*, 19:1089~1093.
 Hansch, C. and A. Leo (1987) *Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology*, John Wiley & Sons, New York.
 Hansch, C., P. G. Sammes and J. B. Taylor Eds., (1990) *Comprehensive medicinal chemistry*, Vol. 4., 21.3. Kubinyi, H., *The Free-Wilson method and its relationship to the extrathermodynamic approach*, Pergamon press, Toronto.
 Health Designs, Inc., 183 West Main Street, Rochester, New York, 14604 U.S.A.
 Isaac, N. S. (1987) *Physical Organic Chemistry*, Ch. 6., p. 247, Longman Scientific & Technical, England.
 Kubinyi, H. (1993) *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*. Ch. 4~5., VCH, New York.
 Kurkov, V. P. and S. Rafael (1985) 3-Isioxazolin-5-one fungicides, U.S. patent, 4,504,486. C.A., 103:54,064n.
 Nagata, C. and T. Yamaguchi (1979) Molecular orbital study on the reaction mechanism of irreversible enzyme inhibitors. *J. Med. Chem.*, 22:13~17.
 Patai, S. (1964) *The Chemistry of Alkenes*, Vol. 1., Ch. 8., Interscience, New York.
 Sakhaikar, S. S., G. M. Khandekar, S. D. Sahasrabudhe, C. K. Rao and D. C. Lathbury (1995) *Herbicidal 3-(hetero)aryl-4-acylisoxazole compositions and compounds*. GB. 2,284,600.
 Summers, L. A. and J. W. Byrd (1968) The relationship between chemical constitution and anti-fungal activity in arylhydrazono-isoxazolone compounds. *Ann. appl. Biol.* 62:45~53.
 Summers, L. A. (1968) *Isioxazolinone fungicides*, C. A., 68:87,286y.
 Verloop, A. (1987) *The STERIMOL Approach to Drug Design*, Marcel Dekker, New York.
 성낙도, 성민규 (1999) N-phenyl-O-phenylthiono carbamate 유도체의 항균활성에 미치는 Phenyl 치환기의 효과, *한국농약과학회지*. 3(1):29~36.
 이희철 (2001) 2-Benzoyl-3-phenylisoxazol-5-one 유도체의 합성과 항균활성에 관한 2D 및 3D 구조-활성관계, 충남대학교 대학원, 석사학위논문.

Synthesis and quantitative structure-activity relationships on the antifungal activity of 3-phenylisoxazol and 3-phenyl-2,5-dihydro-5-isoxazolone derivatives

Nack-Do Sung^{*}, Seong-Jae Yu and Hee-Chul Lee^{1*} (*Division of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea, ¹Dongbu Fine Chemicals Co., Chungchong Province Technology Diffusion Center, 293-2, Sonchong-Dong, Daedug-Gu, Daejon 306-040, Korea*)

Abstract : A series of new 2-benzoyl-3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one, (A) and 3-phenyl-5-phenylcarbonyl-oxyisoxazole, (B) derivatives as substrates were synthesized and their quantitative structure-activity relationships (QSAR) analyses between the antifungal activities (pl_{50}) and physicochemical parameters of substituents on the benzoyl group against resistant (RPC:95CC7303) and sensitive (SPC:95CC7105) *Phytophthora* blight (*Phytophthora capsici*) were studied. The synthetic yield (%) and antifungal activities of (A) were higher than (B) and selectivities between the fungi were not showed. From the basis on the Hansch-Fujita analyses, the optimum width values ($(B_2)_{opt}$ = ca. 4.00 Å) of the substituents on the benzoyl group were important factor in determining fungicidal activity against the two fungi. Influence of the substituents as electron withdrawing group on the fungicidal activity against RPC, but not for SPC. And the bromo- and acetyl-substituents were contributed to higher antifungal activity against RPC and SPC from the results of Free-Wilson analyses.

*Corresponding author (Fax : +82-42-825-3306, E-mail : ndsung@cnu.ac.kr)