

홀로그래프(H) QSAR 방법에 따른 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 Protox 저해 활성에 관한 이해

성낙도* · 송종환¹ · 박경용

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹한국화학연구원 세포화학 연구팀

(2004년 8월 4일 접수, 2004년 9월 18일 수리)

HQSAR 방법으로 일련의 새로운 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들 중 A = 3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 C = 3,4-dimethylmaleimino 치환체들의 구조 변화에 따른 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피(*Echinochloa crus-galli*) 뿌리와 줄기부위 사이의 살초활성 관계를 연구하였다. 두 가지 초종의 뿌리와 줄기의 살초활성에 대하여 유도된 4개의 HQSAR 모델들은 예측성, cross-validated r^2_{cv} 값($q^2 = 0.760-0.924$), non-cross-validated 상관계수($r^2_{ncv} = 0.868-0.970$) 및 PRESS 값(0.123-0.261)에 근거하여 매우 양호한 통계값들을 나타내었다. 유도된 HQSAR 모델들은 벼 보다는 논피에 대하여 양호한 경향을 나타내었으며 CoMFA 모델에 비하여 예측성은 좋았으나($q^2 = \text{HQSAR} > \text{CoMFA}$) 저해활성과의 상관성은 약간 낮은($r^2 = \text{HQSAR} < \text{CoMFA}$) 경향이 있었다. 또한, HQSAR 기여도로부터 논피에 대한 선택적인 살초활성은 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxy anilino 및 C-phenyl 고리상 R₃ 치환기에 의존적임을 알았다.

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

서 론

1970년대 이전까지 protoporphyrinogen oxidase(Protox: EC 1.3.3.4)의 저해작용으로 인한 제초성 화합물의 탐색에 관한 연구가 30여년 간 지속되는 동안, 주로 oxadiazoles, phthalimides 및 diphenyl ether 유도체들이 다루어졌으며¹⁾ 1980~1990년대에는 aryl triazolinone, sulfentrazone 및 carfentrazone-ethyl 등이 개발되어 상품화되기에 이르렀다.²⁾ 특히, diphenyl ether와 cyclic imide계 광역동성 화합물들은 isoxzole 고리상 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino 및 halogen 치환체³⁾들이 필수 골격으로 인식되어 5-위치의 alkoxyanilino-치환체들의 구조 변형에 따른 제초활성에 관하여 중점적으로 연구하고 있으며⁴⁾ 이 부분을 헤테로 고리형으로 변화시켜 새로운 선택성을 얻으려는 방향으로 연구가 진행되고 있다.⁵⁾

이들 일련의 protox 제초제들의 제초성 향상을 기하기 위하여 구조-활성관계(SAR)에 대한 연구가 이루어진 바 있으며⁶⁾ 이에 기초하여 차세대 protox 저해제로 benzoheterocyclic uracil 유도체들에 관한 연구가 이루어지고 있다.⁷⁾ 최근에는 N-[4-chloro-2-fluoro-5-pro-paglyoxy]phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimid 유도체들에 관한 제초활성과 생화학 및 생리학적인 측면에 관한 연구들이 보고되고 있다.^{8,9)} 이같은 시도의 일환으로 근래, 저자들에게 의하여 N-치환 phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide와 N-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 및 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-

yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 생장 저해활성에 관한 정량적인 구조-활성관계(QSAR)와 분자 유사성은 물론, CoMFA 분석에 관하여 보고된 바 있다.^{10,11,12)}

본 연구에서는 홀로그래프(H)QSAR 방법¹³⁾으로 새로운 cyclic imide계 화합물로서 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들에 의한 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피(*Echinochloa crus-galli*)의 뿌리와 줄기 부위의 protox 저해활성에 관하여 이해하고자 하였다.

재료 및 방법

기질 분자와 살초활성. 분자 모델링과 통계(partial least square, PLS) 분석은 Tripos 사의 Sybyl(Ver. 6.91) 분자 모델링 소프트웨어(Tripos Inc.)¹⁴⁾를 사용하여 수행하였다. 기질분자의 공통 부분인 1-(5-methyl-3-(R)-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluoro benzene을 기본 골격으로(Fig. 1) O-phenyl 고리에 X-치환기로 A = 3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 C = 3,4-dimethylmaleimino group이 도입된 54개 화합물들에 의한 벼(ORY: *Oryza sativa* L.)와 논피(ECH: *Echinochloa crus-galli*)의 뿌리와 줄기에 대하여 관측된 살초 활성값(obs.pI₅₀)¹⁰⁾을 사용하였다. 이들 54개의 화합물 중, 46개의 화합물을 training set로 설정하여 두 초종의 부위별로 4개의 HQSAR 모델들을 유도하고 무작위로 선택된 8개의 화합물 집단을 test set로 선정하여 각 모델들의 예측성을 평가하는데 이용하였다.

분자 홀로그래프의 생성. 일반적으로 HQSAR에 있어서 자료 중 각 분자는 구조적인 분자조각(fragment)과 분자 홀로그래프 형

*연락처

Phone: 82-42-821-6737; Fax: 82-42-825-3306

E-mail: ndsung@cnu.ac.kr

태로 나뉘어 지며¹⁵⁾ 이 과정은 분자의 다양성에 관한 계산¹⁶⁾과 분자 지문들의 생성과 유사하다. 따라서 HQSAR은 홀로그램중에 분자 조각들을 암호화한 다음에 생물 활성과의 상관성을 계산하는 것으로 구체적인 과정은 다음과 같다. 즉, 1-(5-methyl-3-(R)-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 을 기본골격으로(Fig. 1) O-phenyl 고리에 X-치환기로 A, B 및 C-치환체와 C-phenyl 고리에 R-치환기가 각각 치환된 2D-구조의 분자에 대하여 분자조각 수를 2~10 원자 크기의 범위로 생성시키고 분자 CRC(cyclic redundancy check) algorithm을 사용하여 분자의 홀로그램¹⁷⁾ 길이(53~401)를 선택하여 계산을 실행한다. 그리고 구조적인 분자 조각들과 분자 홀로그램 구성 파라미터는 fragment size와 fragment distinction으로 나누어 진다. 이 단계에서 hologram lengths는 53~401을 모두 선택하여 통계 분석을 실행하였으며 fragment distinction은 atoms, bonds, connections, hydrogens 및 chirality 파라미터를 기본적으로 선택한¹⁸⁾ 다음에 분자조각 수를 결정한다. 여기에서는 조각의 수가 6~9일 때 가장 양호한 통계값을 얻을 수 있었으므로 그 조각 수(2~5)를 기준으로 hologram lengths는 71로 고정하고 각각의 fragment distinction을 변화시켜 최종적으로 가장 좋은 통계값(q^2 및 r^2)을 갖는 HQSAR 모델을 탐색하였다.

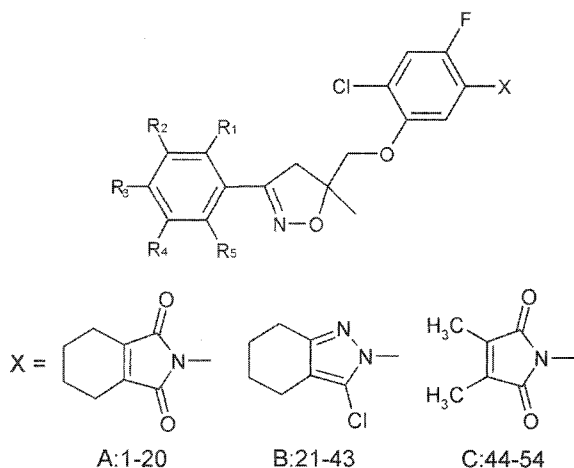


Fig. 1. General structures of 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives and A~C substituents.

HQSAR-PLS의 계산. 분자 홀로그램의 계산은 화합물의 수에 분자 홀로그램의 길이를 곱한 차원의 자료를 계산하므로써 얻어진다. PLS 분석¹⁹⁾은 생물활성에 대한 설명인자 변수들(예컨데, 홀로그램중 bin들의 채워진 수들)과의 관계를 통계적인 모델로 생성하는데 활용된다. 따라서 PLS계산으로부터 성분(component)의 적정한 수가 선택되기 위하여 홀로그램 길이들은 가장 높은 q^2 (best cross-validated r_{cv}^2) 값에 기초한다. 주성분의 적정수는 예측의 가장 작은 표준 오차에 연관되어 있으며 예측력은 leave-one out(LOO) cross validation 과정에 의하여 q^2 값이 결정된다. 그 다음에 적정한 주성분의 수를 사용하여 cross-validation하지 않고 유도되는 모델에 대하여 최종 PLS 분석을 실행한다.²⁰⁾ 각 분자 조각중에 포함된 정보는 기본적으로 H 원자와 키랄성(chirality)이 제외된 채로 atom, bond 및

connections들이 홀로그램을 생성하는데 사용된다. 그리고 PRESS값은 squared prediction error의 합으로 test set의 관측값과 예측값 사이 제곱편차의 합에 해당하는 값이다. 체계적으로 training set로부터 유도된 모델들은 training set에서 제외된 화합물들(test set)에 의하여 모델의 활성이 예측된다. 그러므로 결과적으로 QSAR 모델의 질(quality)은 예측성($q^2 > 0.50 =$ predictive ability)과 활성과의 상관성($0.90 > r^2 =$ goodness of fit)에 의하여 결정된다. 따라서 HQSAR 결과는 최종 PLS 분석 결과들에 의하여 색깔로 암호화 된 기여도(contribution map)로 해석된다. 여기에서는 가장 큰 활성(obs.pl₅₀ = 5.03) 분자인 B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 치환체(36)의 중요한 분자 조각들을 기여도로 나타내었다.

결과 및 고찰

분자의 구조와 활성. 새로운 cyclic imide계 화합물로 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene (Fig. 1)의 C-phenyl 고리에 R-치환기와 O-phenyl 고리에 X-치환기로서 A = 3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 C = 3,4-dimethylmaleimino-치환기가 결합된 N-[4-chloro-2-fluoro-5-(5-methyl-3-phenylisoxaliny) methoxyphenyl]-3,4,5,6-tetrahydrophthal imides(A:1~20), 3-chloro-2-[4-chloro-5-(3-phenyl-5-methylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-fluorophenyl]-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazoles(B: 21~43) 및 N-[4-chloro-2-fluoro-5-(5-methyl-3-phenylisoxa-lin-5-yl) methoxyphenyl]-3,4-dimethylmale imides(C: 44~54) 유도체들에 의한 두 종류의 부위별 관측된(Obs.) 살초활성 값들을 Table 1에 정리하였다. 특히, 벼에서는 C-치환기 그리고 논피에서는 B-치환기가 도입된 치환체들이 각각 높은 활성을 나타내어 대체로 B ≥ C > A의 순으로 살초활성을 보였으며 벼보다 논피에 대하여 다소 큰 살초 활성을 나타내는 경향이였다. 따라서 HQSAR 방법으로¹³⁾ 분자들의 구조적인 특성과 살초활성 사이의 관계를 분석하기 위하여 부분 최소자승(PLS; partial least square)법으로 계산하여 HQSAR 모델을 유도하였다. Training set와 test set에 포함된 두 종류의 부위별 관측된 살초 활성값(Obs.) 그리고 가장 양호한 HQSAR 모델로 계산한 예측값(Calc.)과 두 값의 차이(Dev.) 값(pl₅₀)들을 Table 1에 정리하였다. 관측값(obs.pl₅₀)에 근거한 벼와 갈피 줄기의 제초활성은 비례관계를 보였으나 뿌리의 경우에는 경향이 나타나지 않았으며 대체로 벼보다 논피에 대하여 다소 제초활성이 큰 경향을 나타내었다.

부위 별 HQSAR 모델. 논피 줄기의 살초활성에 대한 HQSAR 모델 유도과정은 다음과 같으며 2D 구조에 대하여 fragment size와 fragment distinction의 영향을 조사하여 Table 2에 정리하였다. 그 결과, best length가 71일 경우에 주성분수가 4이었으며 cross-validated r_{cv}^2 즉, q^2 은 0.915 그리고 non cross-validated r_{ncv}^2 은 0.955로 가장 높은 예측성과 상관성을 나타내었다. 이러한 조건(fragment size: 6~9)에서 fragment distinction을 탐색한 바, connectivity가 on이었을 경우에 가장 높은 예측성과 상관성을 나타내는 모델을 얻었다. 이 결과를 바

Table 1. Observed values (Obs.), calculated values (Calc.) by HQSAR models and deviations (Dev.) for training set and test set in herbicidal activities (pI₅₀) against shoot and root of rice plant (ORY.) and barnyardgrass (ECH.)

No.	Sub.(R)	ORY. shoot			ORY. root			ECH. shoot			ECH. root		
		Obs.	Calc. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Calc. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Calc. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Calc. ^{a)}	Dev. ^{b)}
01	H	4.27	4.24	0.03	4.45	4.45	0.00	4.41	4.39	0.02	4.37	4.36	0.01
02	2-F	4.19	4.27 ^{c)}	-0.08 ^{c)}	4.25	4.44	-0.19	4.41	4.34	0.07	4.37	4.50 ^{c)}	-0.13 ^{c)}
03	2-Cl	4.19	4.13	0.06	4.48	4.45	0.03	4.38	4.36	0.02	4.40	4.35	0.05
04	2-OCH ₃	4.22	4.20	0.02	4.47	4.49	-0.02	4.41	4.35	0.06	4.42	4.01 ^{c)}	0.41 ^{c)}
05	2-CN	3.95	3.90	0.05	4.41	4.33	0.08	4.36	4.37	-0.01	4.25	4.32	-0.07
06	2-NO ₂	4.02	4.26 ^{c)}	-0.24 ^{c)}	4.39	4.29	0.10	4.37	4.38	-0.01	4.26	4.28	-0.02
07	3-F	4.12	4.16	-0.04	4.40	4.58	-0.18	4.39	4.40	-0.01	4.35	4.40	-0.05
08	3-Br	4.07	4.06	-0.01	4.48	4.43	0.05	4.26	4.31	-0.05	4.29	4.37	-0.08
09	3-Cl	4.02	4.05	-0.03	4.42	4.44	-0.02	4.31	4.31	0.00	4.33	4.35	-0.02
10	3-CN	4.05	4.06	-0.01	4.44	4.46	-0.02	4.33	4.35	-0.02	4.28	4.30	-0.02
11	3-OCH ₃	4.32	4.30	0.02	4.49	4.46	0.03	4.43	4.33	0.10	4.37	4.23	0.14
12	4-F	4.22	4.22	0.00	4.40	4.44	-0.04	4.46	4.38	0.08	4.47	4.37	0.10
13	4-Cl	4.14	4.09	0.05	4.45	4.45	0.00	4.19	4.26 ^{c)}	-0.07 ^{c)}	4.29	4.30	-0.01
14	4-Br	4.08	4.12	-0.04	4.49	4.44	0.05	4.34	4.35	-0.01	4.32	4.29	0.03
15	4-OCH ₃	4.20	4.22	-0.02	4.48	4.45	0.03	4.43	4.33 ^{c)}	0.10 ^{c)}	4.39	4.34	0.05
16	4-CN	4.15	4.19	-0.04	4.48	4.41	0.07	4.40	4.39	0.01	4.33	4.31	0.02
17	2,4-Cl ₂	3.98	3.92	0.06	4.44	4.45 ^{c)}	-0.01 ^{c)}	4.10	4.20	-0.10	4.36	4.30	0.06
18	3,5-(CH ₃) ₂	4.20	4.19	0.01	4.25	4.20	0.05	4.38	4.42	-0.04	4.26	4.31	-0.05
19	4-CF ₃	3.85	3.95 ^{c)}	-0.10 ^{c)}	4.19	4.29	-0.10	4.11	4.11	0.00	4.15	4.12	0.03
20	3,4-Cl ₂	3.80	3.88	-0.08	4.68	4.40 ^{c)}	0.28 ^{c)}	4.10	4.16	-0.06	4.24	4.31	-0.07
21	H	4.75	4.65	0.10	4.92	4.75	0.17	4.95	4.93	0.02	4.97	4.96	0.01
22	2-F	4.69	4.68	0.01	4.82	4.73	0.09	4.91	4.88	0.03	5.06	5.10	-0.04
23	2-Cl	4.51	4.55	-0.04	4.77	4.75	0.02	4.95	4.91	0.04	4.97	4.95	0.02
24	2-OCH ₃	4.56	4.61	-0.05	4.85	4.79	0.06	4.83	4.89	-0.06	4.98	4.62 ^{c)}	0.36 ^{c)}
25	2-CN	4.30	4.31	-0.01	4.57	4.63	-0.06	4.90	4.91	-0.01	4.93	4.92	0.01
26	2-NO ₂	4.77	4.68	0.09	4.58	4.59	-0.01	4.90	4.93	-0.03	4.88	4.88	0.00
27	3-F	4.50	4.57	-0.07	4.70	4.75	-0.05	4.91	4.95	-0.04	5.00	5.00	0.00
28	3-Br	4.34	4.47	-0.13	4.68	4.73	-0.05	4.85	4.86	-0.01	4.95	4.97	-0.02
29	3-Cl	4.60	4.50	0.10	4.74	4.75	-0.01	4.83	4.81	0.02	4.93	4.91	0.02
30	3-CN	4.34	4.47	-0.13	4.49	4.75 ^{c)}	-0.26 ^{c)}	4.93	4.90 ^{c)}	0.03 ^{c)}	4.92	4.91	0.01
31	3-OCH ₃	4.67	4.71	-0.04	4.79	4.76	0.03	4.79	4.88	0.09	4.89	4.84	0.05
32	3-NO ₂	4.53	4.51	0.02	4.69	4.68	0.01	4.95	4.93	0.02	4.91	4.90	0.01
33	4-Cl	4.57	4.50	0.07	4.86	4.75	0.11	4.89	4.81	0.08	4.90	4.91 ^{c)}	-0.01 ^{c)}
34	4-Br	4.30	4.54 ^{c)}	-0.24 ^{c)}	4.69	4.74	-0.05	4.87	4.89	-0.02	4.85	4.90	-0.05
35	4-OCH ₃	4.43	4.64 ^{c)}	-0.21 ^{c)}	4.77	4.75	0.02	4.78	4.88	-0.10	4.97	4.95	0.02
36	4-NO ₂	4.56	4.48	0.08	4.60	4.71	-0.11	5.03	5.01	0.02	4.92	4.88	0.04
37	4-CN	4.65	4.60	0.05	4.58	4.71	-0.13	4.91	4.93	-0.02	4.91	4.91	0.00
38	2,6-Cl ₂	4.48	4.42	0.06	4.83	4.76	0.07	4.83	4.85	-0.02	4.91	4.94	-0.03
39	2,4-Cl ₂	4.24	4.33	-0.09	4.76	4.75	0.01	4.82	4.75	0.07	4.80	4.90	-0.10
40	2,4-(CH ₃) ₂	4.59	4.34 ^{c)}	0.25 ^{c)}	4.88	4.60 ^{c)}	0.28 ^{c)}	4.92	4.92	0.00	4.96	4.91	0.05
41	3,5-(CH ₃) ₂	4.59	4.61	-0.02	4.82	4.50 ^{c)}	0.32 ^{c)}	4.97	4.96	0.01	5.00	4.92	0.08
42	4-CF ₃	4.66	4.36 ^{c)}	0.30 ^{c)}	4.60	4.59	0.01	4.72	4.65	0.07	4.75	4.72	0.03
43	3,4-Cl ₂	4.37	4.29	0.08	4.67	4.73	-0.06	4.83	4.71	0.12	4.95	4.91	0.04
44	2-F	4.91	4.94	-0.03	4.93	4.84	-0.09	4.85	4.61 ^{c)}	0.24 ^{c)}	4.82	4.77	-0.05
45	2-Cl	4.85	4.81	0.04	4.70	4.85	-0.15	4.65	4.63	0.02	4.67	4.62	0.05
46	2-OMe	4.89	4.87	0.02	4.85	4.90	-0.05	4.83	4.62 ^{c)}	0.21 ^{c)}	4.27	4.28	-0.01
47	2-CN	4.86	4.57 ^{c)}	0.29 ^{c)}	4.78	4.74	0.04	4.77	4.64 ^{c)}	0.13 ^{c)}	4.75	4.59 ^{c)}	0.16 ^{c)}
48	2-NO ₂	4.91	4.94	-0.03	4.71	4.70	0.01	4.72	4.65	0.07	4.51	4.54	-0.03
49	3-F	4.84	4.83	0.01	4.39	4.86 ^{c)}	-0.47 ^{c)}	4.70	4.68	0.02	4.72	4.67	0.05
50	3-CN	4.88	4.73	0.15	4.88	4.86	0.02	4.36	4.62 ^{c)}	0.26 ^{c)}	4.31	4.57 ^{c)}	-0.26 ^{c)}
51	3-OMe	4.90	4.97	-0.07	4.85	4.87	-0.02	4.66	4.60	0.06	4.38	4.50	-0.12
52	4-NO ₂	4.68	4.74	-0.06	4.92	4.82	0.10	4.65	4.73 ^{c)}	-0.08 ^{c)}	4.61	4.54	0.07
53	4-Cl	4.77	4.76	0.01	4.54	4.86 ^{c)}	-0.32 ^{c)}	4.35	4.53	-0.18	4.27	4.57 ^{c)}	-0.30 ^{c)}
54	2,4-(Me) ₂	4.63	4.60	0.03	4.22	4.71 ^{c)}	-0.49 ^{c)}	4.72	4.65	0.07	4.64	4.58 ^{c)}	0.08 ^{c)}
	Ave. ^{d)}			0.05			0.06			0.04			0.01
	Test.Ave ^{e)}			0.21			0.30			0.14			0.21

^{a)}Predicted value, ^{b)}difference of observed values and predicted values, ^{c)}test set compound, ^{d)}Average residual of training set., ^{e)}Average residual of test set.

Table 2. HQSAR analyses for various fragment distinctions on the key statistical parameters using fragment size default (69); In case of herbicidal activities (pl_{50}) against shoot of barnyardgrass (ECH)

Fragment distinctions	Best length	Statistical parameters				
		$r_{cv}^2(q^2)$	SE _{cv} ^{a)}	r_{ncv}^2	SE _{ncv} ^{a)}	NC ^{b)}
Atom/bond ^{c)}	61	0.911	0.086	0.954	0.062	4
Connectivity ^{d)}	71	0.915	0.084	0.955	0.061	4
Hydrogen (H)	71	0.907	0.089	0.956	0.062	5
Connectivity-H	71	0.902	0.094	0.962	0.059	7
Chirality ^{e)}	71	0.905	0.091	0.959	0.060	6

^{a)}Standard error estimate: in case of cross-validated (cv) and non cross validated (ncv), ^{b)}optimum number of component., ^{c)}In all case, the atoms and bonds flags are turned on., ^{d)}The best model, ^{e)}This option is used by combining with connectivity-hydrogen (H).

Table 3. The HQSAR analyses for the influence of various fragment sizes on the key statistical parameters using the best fragment distinction (atoms, bonds & connectivity); In case of herbicidal activities (pl_{50}) against shoot of barnyardgrass (ECH)

Fragment size	Best length	Statistical parameters				
		$r_{cv}^2(q^2)$	SE _{cv} ^{a)}	r_{ncv}^2	SE _{ncv} ^{a)}	NC ^{b)}
25	199	0.915	0.084	0.950	0.064	4
36	199	0.919	0.081	0.949	0.064	3
47	199	0.916	0.082	0.951	0.063	3
58	151	0.913	0.085	0.957	0.060	4
69 ^{c)}	71	0.915	0.084	0.955	0.061	4
710	353	0.911	0.086	0.957	0.060	4

^{a)}Standard error estimate: in case of cross-validated (cv) and non cross validated (ncv), ^{b)}optimum number of component. ^{c)}The best fragment size

당으로 fragment distinction에 대한 가장 양호한 모델을 탐색하여 (fragment size: 2~10 그리고 length: 60~200 범위) Table 3에 정리하였으나 앞서의 조건에서 얻은 모델보다 통계치가 향상된 모델을 얻을 수 없었다. 이와 같은 과정과 방법으로 구한 두 종류의 부위별 살초활성에 대한 가장 좋은 4개의 HQSAR 모델들을 정리하여 Table 4에 요약하였다. 이들 모델은 벼의 경우, $q^2=0.760\sim0.908$, $r_{ncv}^2=0.868\sim0.960$ 그리고 논피의 경우에는 $q^2=0.915\sim0.924$, $r_{ncv}^2=0.955\sim0.970$ 으로 벼 보다는 논피에 대한 모델이 양호하였다. 이 모델들의 예측성을 검토하기 위하여 두 종류의 부위별 8개 화합물의 test set에 대한 관측값 (Obs.)과 모델로 예측한 값 (Pred.) 그리고 이들 두 값의 차이값 (Dev.)으로부터 평균 0.14~0.30의 편차를 나타내었으므로 이들 모델은 매우 양호한 모델로 판단되었다. 이같은 결과에 기초하여 한 예로, 논피 줄기의 살초활성에 관한 관측값과 유도된 모델에 의하여 계산된 예측값 그리고 test set에 대한 관측값과 예측값과의 비례 관계를 Fig. 2에 나타내었다. 이들 화합물들이 대체로 양호한 직선관계를 보이므로 예측성이 좋은 무난한 모델임을 알수있었으며 유도된 HQSAR 모델 뿐만 아니라, 이 직선 관계식 ($Pred.pl_{50}=0.908Obs.pl_{50}+0.413$, $n=54$, $s=0.079$, $F=521.668$, $r^2=0.910$ 및 $q^2=0.906$)으로부터 예측성을 예상할 수 있었다.

1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체의 두초종에 대한 부위별 살초활성에 관한 CoMFA 연구에 따르면,¹⁰⁾ 유도된 CoMFA 모델은 cross-validated r_{cv}^2 값($q^2=0.635\sim0.924$)과 non cross-validated 상관계수($r_{ncv}^2=0.928\sim0.977$) 그리고 PRESS 값(0.091~0.156)에 근거하여 살초 활성에 대하여 매우 양호한 예측성을 나타내었다. HQSAR 모델들의 통계결과에 근거하여(Table 4), HQSAR 모델

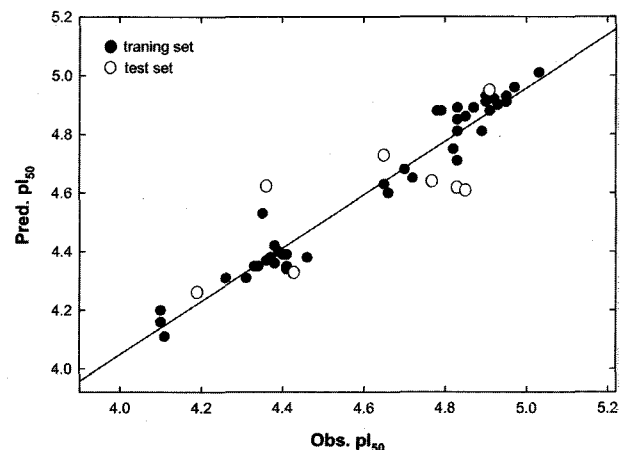


Fig. 2. Relationship between observed values (obs.) and actual prediction values (pred.) for the herbicidal activities against barnyardgrass shoot by HQSAR methodology. ($Pred.pl_{50}=0.908Obs.pl_{50}+0.413$, $n=54$, $s=0.079$, $F=521.668$, $r^2=0.910$, $q^2=0.906$).

은 CoMFA 모델에 비하여($q^2=0.635\sim0.924$ 및 $r_{ncv}^2=0.928\sim0.977$) 예측성은 좋았으나($q^2=HQSA > CoMFA$) 상관성은 약간 낮은($r_{ncv}^2=HQSA < CoMFA$) 분석 결과를 나타내었다. 이와 같이 HQSAR 모델은 선택하는 홀로그램 길이에 기초하여 가장 낮은 cross-validated standard error(s)를 최소화하거나 가장 높은 예측도(q^2)를 찾으므로서 높은 활성을 나타내는 분자의 구조를 설계할 수 있다

고활성 분자의 조건. HQSAR 분석¹³⁾ 결과, 유도된 모델로부터 분자의 활성을 예측할 수 있을 뿐만 아니라, 이같은 결과를 시각적으로 볼수 있도록 하기 위하여 한 예로, 벼와 논피 줄기의 살초활성에 관한 최종 PLS 분석 결과를 관측값이 가장

Table 4. Summary of analyses results from the best models using HQSAR methodology

Statisticals & distinctions	ORY		ECH	
	shoot	root	shoot	root
Optimum NC ^{a)}	4	4	4	4
r ² _{cv.} (q ²) ^{b)}	0.908	0.760	0.915	0.924
r ² _{ncv.} ^{c)}	0.960	0.868	0.955	0.970
SEE _{ncv.} ^{d)}	0.064	0.075	0.061	0.054
Fragments ^{e)}	69	710	69	69
Best length	61	61	71	59
Atom/bond	on	on	on	on
Connectivity	on	on	on	on
Hydrogen (H)	off	on	off	on
Connectivity-H	off	on	off	on
Chirality	off	on	off	off
PRESS ^{f)}	0.168	0.261	0.151	0.123
Residual ^{g)}	0.049	0.058	0.043	0.041
Test. residual ^{h)}	0.213	0.303	0.140	0.213

^{a)}Optimum number of component, ^{b)}cross-validated q², ^{c)}non-cross-validated r², ^{d)}standard error estimate, ^{e)}molecular fragment, ^{f)}predictive-residual sum of squares of the training set, ^{g)}average residual of training set, ^{h)}average residual of test set.

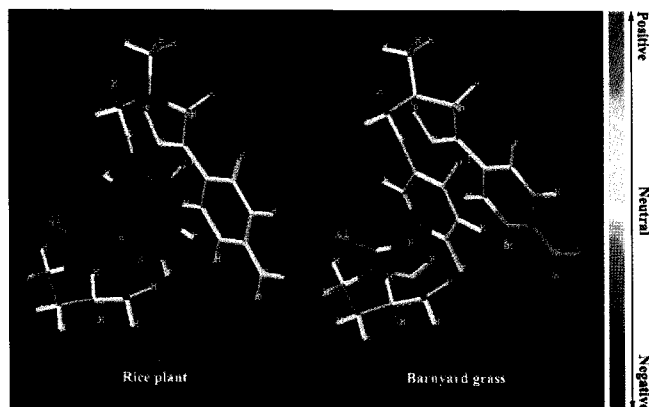


Fig. 3. The HQSAR contribution map for herbicidal activities against shoots of rice plant and barnyardgrass: 4-nitro substituent (36) is shown in capped sticks.

큰(obs.pI₅₀ = 5.03) 활성분자, B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 치환체(36)에 대한 기여도(contribution map)를 Fig. 3에 나타내었다.

벼에 있어서는 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino 및 B-치환체 중 pyrazolyl 고리와 isoxaol 고리상 3-methyl group이 결합된 3번 탄소원자 등이 살초활성에 기여하지 않는 부분(red)이었고 나머지 부분은 중간정도로 기여하고 있음을 나타내고 있다. 그러나 논피의 경우에는 B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl group 부분의 chloro group이 결합된 인접 탄소원자와 1N 원자 및 1N 원자와 결합된 O-phenyl 고리상 X-치환기와 결합된 부분의 탄소 원자들은 활성에 기여하지 않는(red) 반면에 나머지 부분의 분자 구조들은 중간정도의 기여를 나타내고 있다(white). 특히, C-phenyl 고리상 R₃-치환기 부분은 살초활성에 좋은 방향으로 기여하고(green) 있음을 잘 설명하고 있다. 그러므로 이 화합물이 논피 줄기에 대하여 나타내는 선택성은 2-fluoro-4-

chloro-5-alkoxyanilino 및 B-치환체 중 pyrazolyl 고리 그리고 활성증가는 C-phenyl 고리상 R₃-치환기 부분에 의한 결과임을 알 수 있었다. 벼와 논피 뿌리의 경우에도 여기에서 검토한 벼와 논피 줄기의 경우와 대체로 유사한 경향을 나타내었다.

이상과 같은 HQSAR 분석결과에 기초하여 C-phenyl 고리상 R-치환기보다 protox 저해제로서 필수 골격으로 인식되는 O-phenyl 고리와 5-위치의 X-치환기로서 pyrazole-치환기 부분이 논피에 대한 제초활성에 선택성을 발현한다는 CoMFA 결과¹⁰⁾와 일치하는 경향을 나타내었다. 다음 연구로는 비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 방법으로 두 초종의 부위별 살초활성에 관하여 보고하고자 한다.

감사의 글

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

참고문헌

- Duke, S. O. and Robeiz, C. A. (1994) In *Porphyric pesticides, chemistry, toxicology, and pharmaceutical applications*, American Chemical Society Symposium Series, vol. 559. American Chemical Society, Washington, DC.
- Tomlin, C. D. S. (1997) In *The Oesticide Manual* (Eleventh ed.), British Crop Protection Council, Surrey GU9 7PH, UK.
- Hamper, B. C., Leschinsky, K. L., Massey, S. S., Bell, C. L., Brannigan, L. H. and Prosch, S. D. (1995) Synthesis and herbicidal activity of 3-aryl-5-(haloalkyl)-4-isoxazolecarboxamides and thier derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 219-228.
- Fujita, T. (2002) In *Agrochemical Discovery, Insect, Weed, and Fungal control: Similarities in bioanalogous structural transformation patterns*, Baker, D. R. and Umetsu, N. K. (eds.) ACS Symposium Series No. 774., American Chemical Society, Washington, DC, Ch.15.
- Pallett, K. E. (1997) In *Herbicide target sites, recent trends and new challenges*. Proceeding of Brighton Crop Protection Conference-Weeds, pp. 575-578.
- Theodoridis, G. (1997) Structure activity relationships of herbicidal aryltriazolinones. *Pestic. Sci.* **50**, 283-290.
- 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.
- Watanabe, N., Takayama, S., Yoshida, S., Isogai, A. and Che, F. S. (2002) Resistance to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting compound S23142 from overproduction of mitochondrial protoporphyrinogen oxidase by gene amplification in photomixotrophic tobacco cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**, 1799-1805.
- Dayan, F. E., Duke, S. O., Reddy, K. N., Hamper, B. C. and Leschinsky, K. L. (1997) Effects of isozaole herbicides on protoporphyrinogen oxidase and porphyrin physiology. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 967-975.
- Sung, N. D., Song, J. H., Yang, S. Y. and Park, K. Y. (2004)

- Understanding the protox inhibition activity of novel 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives using CoMFA methodology. *Kor. J. Pest. Sci.*, **8**, in press.
11. Sung, N. D., Ock, H. S., Song, J. H. and Lee Y. G. (2003) Comparative molecular field analysis (CoMFA) on the growth activity of *N*-phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide and *N*-phenyl-3,4-dimethylmaleimide derivatives. *Kor. J. Pest. Sci.*, **7**, 75-82.
 12. Sung, N. D., Ock, H. S., Chung, H. J. and Song, J. H. (2003) Quantitative structure activity relationship and molecular shape similarity of the herbicidal *N*-substituted phenyl-3,4-dimethylmaleimide derivatives., *Kor. J. Pest. Sci.*, **7**, 100-107.
 13. Lewis, D. R. (1997) *HQSAR. A new, highly prediction QSAR technique*. Tripos Technical Notes, vol. 1., No. 5.
 14. Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO. 63144-2913, USA, <http://www.tripos.com/Bookshelf/qsar/>.
 15. Flower, D. R. (1998) On the properties of bit string-based measures of chemical similarity. *Chem. Inf. Comput. Sci.* **38**, 379-386.
 16. Turner, D. B., Tyrrell, S. M., Willett, P. (1997) Rapid quantification of molecular diversity for selective database acquisition. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **37**, 18-22.
 17. Heritage, T. W. and Lewis, D. R. (1999) In *Rational drug design; Novel Methodology and Practical Applications: Molecular hologram QSAR. Ch. 4.*, Parrill, A. L. and Reddy, M. R. (eds.) ACS Symposium Series 719, American Chemical Society, Washington, DC.
 18. Tong, W. D., Lewis, R., Perkins, R., Chen, Y., Welsh, W. J., Goddette, D. W., Heritage, T. W. and Sheehan, D. M. (1998) Evaluation of quantitative structure-activity relationship methods for large-scale prediction of chemicals binding to the estrogen receptor. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **38**, 669-677.
 19. Stahle, L. and S. Wold (1988) Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research. *Prog. Med. Chem.* **25**, 292-334.
 20. Wold, S., Albano, C., Dunn, W.J., Edlund, U., Esbensen, K., Geladi, P., Hellberg, S., Johanasson, E., 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. 17-94.

Understanding the Protox Inhibition Activity of Novel 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene Derivatives Using Holographic Quantitative Structure-Activity Relationship (HQSAR) Methodology

Nack-Do Sung*, Jong-Hwan Song¹ and Kyeng-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: Holographic quantitative structure activity relationships (HQSAR) as 2D QSAR between the herbicidal activities against root and shoot of rice plant (*Oryza sativa* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*), and structures of A=3,4,5,6-tetra-hydrophthalimino, B = 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl and C = 3,4-dimethylmaleimino substituents in 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives were studied and discussed. The statistical results of four HQSAR models for the herbicidal activities against root and shoot of the two plants showed the best predictability of the herbicidal activities based on the cross-validated r_{cv}^2 ($q^2=0.760\sim 0.924$), non cross-validated conventional coefficient ($r_{ncv}^2=0.868\sim 0.970$) and PRESS values (0.123~0.261). The results indicated that the qualities of HQSAR models for barnyardgrass were slightly higher than that of rice plant. And also, the predictability of HQSAR models were higher ($q^2=HQ\text{SAR} > CoMFA$) than CoMFA but the conventional coefficients of HQSAR models lower ($r^2=HQ\text{SAR} < CoMFA$) than CoMFA. Moreover, from the contribution maps, it was founded that the selectivity between the two plants depends upon the 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyanilino and R₃ substituent on the C-phenyl ring. These features suggest where to modify a molecular structure in order to improve its selective of herbicidal activities against barnyardgrass.

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

*Corresponding author