

비교 분자장 분석 (CoMFA) 방법에 따른 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluoro- benzene 유도체들의 Protox 저해 활성에 관한 이해

성낙도^{*} · 송종환¹ · 양숙영 · 박경용

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, 한국화학연구원 세포화학연구팀¹

요약 : 새로운 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 phenyl 고리에 R-치환기와 X-치환기가 도입된 A=3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 C=3,4-dimethylmaleimino 치환체들에 의한 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피 (*Echinochloa crus-galli*) 뿌리와 줄기 부위의 살초활성에 관한 3차원 구조-활성관계(3D-QSAR)를 Gasteiger-Huckel 전하를 사용하여 비교 분자장 분석 (CoMFA) 방법으로 연구하였다. 두 종류의 뿌리와 줄기의 살초 활성에 대한 4개의 CoMFA 모델들은 46개 화합물로 구성된 training set로부터 유도되었으며 각 모델들은 8개 화합물의 각 test set에 의하여 예측성이 평가되었다. Standard field, indicator field 및 H-bond field를 조합한 조건(SIH)에서 유도된 모델들의 통계결과는 cross-validated r^2_{cv} 값($q^2=0.635\sim0.924$)과 non cross-validated, r^2_{ncv} (0.928~0.977) 값 그리고 PRESS 값(0.091~0.156)에 근거하여 매우 양호한 예측성을 나타내었다. 그리고 살초 활성은 분자의 입체장(74.3~87.4%), 정전기장(10.10~18.5%) 및 소수성장(1.10~8.30%)과 높은 상관성을 보였으며 입체장이 살초 활성에 가장 중요한 요소이었다. 이같은 CoMFA 분석 결과로부터, 이종 간 선택적이며 고 활성의 protox 저해제들이 X-치환기의 수식에 의하여 설계될 수 있을 것임을 알았다. (2004년 7월 23일 접수, 2004년 9월 23일 수리)

서 론

제초제의 분류기준(HRAC, 2002)에 따른 작용 기작은 대략 20여 가지로 알려져 있으며 상용화 된 약 120여 품목의 유효 성분들 중 90여 품목의 성분은 제2 광합성(PS-II) 저해제와 acetolactase synthase (ALS) 저해제에 속한다. 그리고 그 이외에 40여 품목의 유효 성분들이 lipid synthesis 저해제 및 protox 저해제로 각각 분류되어 있다.

이중에서 protox (ptotoporphyrinogen oxidase) 제해제들은 주로 diphenyl ether (DPE)와 cyclic imide (CyI)계 화합물들이 대부분인데 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyaniline 이 필수 골격으로 인식되어 5-위치의 alkoxyanilino-치환체들의 구조 변형에 따른 제초활성에 관하여 주시

하고 있으며(Fujita, 2002) 이 부분을 헤테로 고리형으로 변화시켜 새로운 선택성을 얻으려는 방향으로 연구가 진행되고 있다(Pallett, 1997). 이와 병행하여 차세대 protox 저해제로 benzoheterocyclic uracil 유도체들에 관한 연구가 이루어 지고 있다(Theodoridis 등 2000). 이같은 시도의 일환으로 근래, 저자들(성 등, 2003b; 2003c)에 의하여 N-치환 phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide와 N-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 유도체들의 생장 저해활성에 관한 정량적인 구조-활성관계(QSAR)와 분자 유사성은 물론, CoMFA 분석에 관하여 보고된 바 있다.

본 연구에서는 새로운 CyI계 화합물로서 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체들의 3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, 3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 3,4-dimethylmaleimino-치환체들에 의한 벼(*Oryza sativa* L.)와 논피

*연락저자

(*Echinochloa crus-galli*) 뿌리와 줄기 부위의 protox 저해 활성에 관한 3차원적인 구조-활성상관 관계(3D-QSAR)를 비교 분자장 분석(CoMFA) 방법(Kubinyi, 1993)으로 이해하고자 하였다.

재료 및 방법

분자의 구조와 활성

새로운 CyI계 화합물로 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene(그림 1)의 C-phenyl 고리에 R-치환기와 O-phenyl 고리에 X-치환기로서 A=3,4,5,6-tetrahydro-phthalimino, B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl 및 C=3,4-di-methylmaleimino-치환기가 결합된 N-[4-chloro-2-fluoro-5-(5-methyl-3-phenylisoxalin-5-yl)-methoxyphenyl]-3,4,5,6-tetrahydrophthalimides (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-phenylisoxalin-5-yl)methoxyphenyl]-3,4-dimethylmaleimides (C: 44~54) 유도체 등, 54개의 기질 화합물들을 합성하고(송, 2002) 벼(ORY: *Oryza sativa* L.)와 논피(ECH: *Echinochloa crus-galli*)의 뿌리와 줄기에 대한 성장 저해활성을 3반복 측정하여(양, 2001) 다음 식, $\text{obs. pI}_{50} = -\log\{\text{EC}_{50}(\text{ppm})/\text{분자량} \times 1000\}$ 으로 관측된 살초 활성값(obs. pI_{50})을 계산하였다.

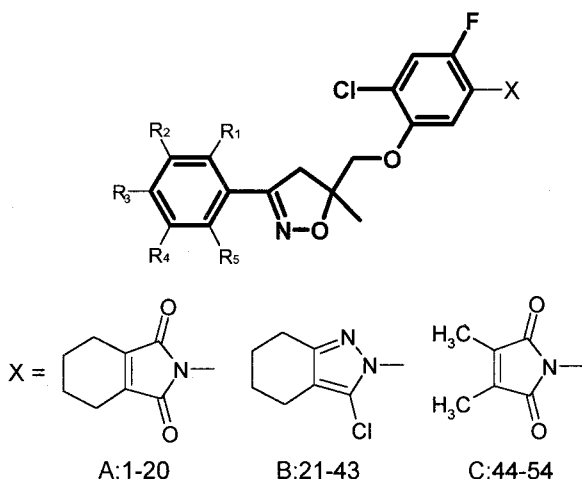


Fig. 1. Compound used as template for molecular alignment showing: in bold face is shown the reference atoms used in multifit alignment protocol of the SYBYL program.

이같이 54개의 화합물로 구성된 data set 중, 총 46개 화합물을 training set으로 설정하여 두 종류의 부위별로 4개의 CoMFA 모델을 유도하고 무작위로 선택된 8개의 화합물은 test set으로 선정하여 각 모델들의 예측성을 평가하는데 이용하였다.

기질 분자의 모델링

분자 모델링과 통계(partial least square, PLS) 분석은 Tripos 사의 Silicon Graphics O₂ Workstation 하드웨어와 Sybyl (Ver. 6.91) 분자 모델링 소프트웨어(Tripos Inc.)를 사용하여 수행하였다. 즉, Sybyl build program으로 기질 분자의 공통 부분인 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene을 기본골격(template)으로(그림 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-치환기와 C-phenyl 고리에 R-치환기가 각각 치환된 2D-구조의 분자들을 구축하였다.

가장 안정한 분자의 형태를 탐색하기 위하여 2D-구조를 Concord 4.0 program으로 3D-구조의 분자로 전환하였다. 최소화 에너지는 Powell conjugate gradient algorithm을 이용하여 simulated annealing 방법(Kerr, 1994)으로 구하였다. 즉, 3D-구조의 분자로 전환하기 위하여 각 구조들은 거리에 의존적인 비 전자적 기능과 0.001 Kcal/mol.Å 에너지 곡선의 집합점 조건인 standard Tripos force field에서 특정 원자의 부분 전하는 Gasteiger-Huckel charge를 사용하여 기하학적으로 완전하게 최적화하여(Termination: Gradient 0.001 Kcal/mol 및 Max. iterations: 10,000) 가장 낮은 최소화 에너지(Template: minimization energy=4.389 Kcal/mol)를 갖는 안정한 분자의 형태(conformer)를 탐색하였다. 그리고 정전기장을 계산하기 위하여는 3차원 공간에 분자들의 중첩을 필요로 하기 때문에 C-phenyl 고리상 R-치환기와 수소원자를 제외시킨 비 치환된 template 분자의 에너지가 최소화된 가장 안정한 형태에 R-치환기와 X-치환기가 치환된 기질 분자들을 atom-based fit 방법(Marshall 등, 1979)으로 RMS (root mean square) fitting하여 3차원 공간상에 중첩시켜서(그림 2) 정렬하였다. 이때 모든 분자들의 구조적인 정렬은 pharmacophore model인 template 분자와 이에 중첩되는 fit 분자들에 속한 atom pairs 사이의 RMS 거리를 최소화하여 이루어진다.

CoMFA-PLS 분석

CoMFA의 입체장과 정 전기장을 계산하기 위하여 3차원 공간상에 atom-based fit 방법으로 정렬된 각 분자들을 18×20×22 Å 규격의 3차원 입방격자 공간상에 space grid를 1.0~3.0 Å 범위내에서 0.5 Å 단위로 sp³ 혼성과 +1 전하를 갖는 탄소 원자를 probe atom으로 규칙적으로 배열하였다. 그리고 모든 격자 교차점에서 probe atom과 분자의 나머지 부분 사이의 electrostatic field (Coulombic potential)와 분자간 분산력(dispersion)을 설명하기 위하여 Lennard-Jones potential에 의한 steric field (van der Waals potential) 에너지를 계산하였다. 이때 입체장과 정전기장 에너지에 대한 최대 차단 에너지(default cut off energy)는 30 kcal/mol 이었다. 모델의 상관성을 높이기 위하여 설명인자로 입체장과 정전기장을 위시하여 부가 설명인자로 소수성장(clogP)을 CoMFA field에 첨가하였다. 그리고 CoMFA의 범위를 확장하므로써 advanced CoMFA 모델을 얻기 위하여(Hasegawa 등, 1999) standard field (S), indicator field (I) 및 H-bond field (H) 모두를 조합한 조건(SIH)에서 모델을 유도하였으며 소수성은 CLOGP module로 계산된 clogP값을 사용하였다.

3차원 공간상에 정렬된 화합물들의 3D-구조적 특징과 생물 활성간의 상관성을 부분 최소자승(partial least square, PLS) 법(Stahle 등, 1988)으로 계산하였다. 최적의 주성분(principal component) 수를 결정하기 위하여 LOO (leave-one-out) cross-validated (cv.)과정을 실행하여 r²_{cv.}, (q²)값을 얻은 다음에 생물활성을 독립변수로 한 조건(validation: no cross-validation (ncv.), scaling: CoMFA standard 및 column filtering: 2.0 kcal/mol)으로 실행시켜 r²_{ncv.} 값을 구 하였다(Wold 등, 1984). 모델의 r²_{ncv.} 값(squared of correlation coefficient)이 0.90 이상, 그리고 LOO cross-validated 과정으로 q² 값 (또는 r²_{cv.} = cross-validated correlation coefficient)이 0.5 이상의 값이 얻어졌을 경우에 한하여 유도된 CoMFA 모델이 안정성과 합리적인 예측성을 갖는 것으로 판단한다. 예측성의 정량적인 척도인 q² 값은 다음 식과 같이 정의된다(Anand 등, 2003). 여기에서 PRESS (predictive residual sum of squares)값은 cross-validation 결과로서 squared prediction errors의 합으로 test set 분자의 관측값과 예측값 간 제곱 편차의 합이다. 또한, Y_{obs.}은 training set과 test set중 화합물들의 관측값(obs.pl₅₀)이고 Y_{mean}은 관측값의 평균값 그리고 Y_{pre.}은 예측값이다.

$$q^2(\text{or } r^2_{cv.}) = 1 - \text{PRESS} / \sum (Y_{\text{obs.}} - Y_{\text{mean}})^2,$$

$$\text{PRESS} = \sum (Y_{\text{obs.}} - Y_{\text{pre.}})^2$$

등고도와 활성의 예측

기질 화합물들은 대체로 베타 보다 논피에 대하여 B ≥ C > A의 순으로 살초 활성을 보였으므로 활성이 가장 높았던 B-치환된 2-fluoro-치환체(22)에 의한 등고도 (Steric: Green (favored; contribution level, 80%), Yellow (disfavored; 20%) & Electrostatics: blue (favored; 80%), red (disfavored; 20%))를 제시하였다. 두 초종의 부위 별로 유도된 4개의 CoMFA 모델들에 포함된 정보들을 graphic analyses하기 위하여 3차원 공간상의 probe atom과 기질 분자와의 상관성을 입체적 및 정전기적 성분으로 구분하여 살초활성 변화에 관한 CoMFA coefficient들을 등고도(contour map)으로 나타내었다.

CoMFA 모델의 예측성을 확인하기 위하여 test set 분자들을 대상으로 살초 활성을 예측하였다. 고 활성 화합물은 training set으로부터 얻어진 CoMFA 모델 (q² > 0.5 및 r²_{ncv.} > 0.90)로 optimizing QSAR (Method: Random, Cycle: 100 및 Best: 10)을 실시하여 기질 (그림 1) 분자의 C-phenyl 고리상 비 치환체를 기준으로 R₁-R₅에 309개의 치환기들을 각각 다양하게 치환시킨 치환체들에 대하여 예측을 실시하였다. 우선, 기질분자 각각의 살초 활성과 선택성 유무를 판별하기 위하여 논피 줄기와 뿌리에 관한 CoMFA 모델로 optimizing QSAR을 실시하여 살초 활성이 큰 화합물을 예측하고 예측된 화합물들을 다시 베타 줄기와 뿌리의 살초 활성에 관한 모델에 적용하여 예측하였다.

결과 및 고찰

살초 활성과 분자정렬

총 54개의 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체 중, O-phenyl 고리상에 X-치환기와 C-phenyl 고리상에 R-치환기가 도입된 모든 화합물들을 망라한 “표 1”의 data set 중, 두 초종의 부위 별, 무작위로 각각 8개의 화합물을 선택하여 test set로 정하여 제외시킨 다음에 나머지 46개 화합물을 training set로 설정하였다. 두 초종의 부위 별, 관측된 살초 활성값(obs.pl₅₀) 중에서 비교적 높은 활성을 나타낸 화합물은 다음과 같았다. 즉, 베타 줄기; 44, 46, 48 및 51, 베타 뿌리; 21, 44 및 52 등은

obs.pl₅₀=4.90 부근을, 그리고 논피 줄기; 21, 23, 36 및 41, 논피 뿌리; 22, 27, 35, 41 및 43 등은 obs.pl₅₀=4.95~5.06 사이의 값들을 각각 보였다. 이 중에서 B-치환체로서 R=2-fluoro 기가 도입된 화합물(22)이 제일 큰 살초 활성(obs.pl₅₀=5.06)을 보였으며 특히, 벼에서는 C-치환기 그리고 논피에서는 B-치환기가 도입된 치환체들이 각각 높은 활성을 나타내었다. 따라서 기질 화합물들은 대체로 B>C>A의 순으로 살초 활성을 보였으며 벼보다 논피에 대하여 다소 큰 살초 활성을 나타내는 경향이였다. 부위 별, 관측값(obs.pl₅₀)을 중심으로 벼와 논피간 줄기의 살초 활성은 비례 관계를 보였으나 뿌리의 경우에는 경향이 나타나지 않았다. 또한, data set내 두 초종의 부위별로 관측값과 예측값차(Dev.)의 평균값이 0.03~0.04로 관측값과 예측값 사이에 좋은 일치를 보였으므로 유도된 CoMFA 모델들의 예측성이 매우 양호함을 시사하고 있다.

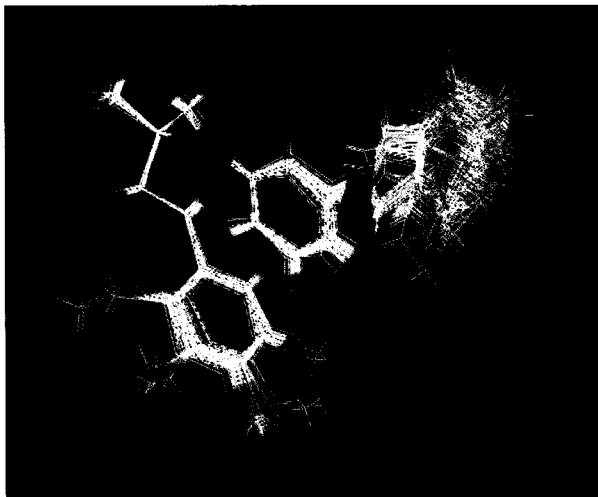


Fig. 2. The alignment of the potential energy minimized substrate structure using atom based fit alignment.

두 초종의 부위 별, training set의 살초 활성에 관한 CoMFA 모델을 유도하기 위한 사전 단계로서 분자를 정렬하기 위한 형태의 탐색은 simulated annealing 방법(Kerr, 1994)에 따라 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)-methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 골격(template)에 A~C 치환기가 도입된 치환체들에 대하여(그림 1) standard Tripos force field에서 Gasteiger-Huckel charge를 사용하여 최적화가 실행되었다. 이때 template 분자의 최소화 에너지는 4.389 Kcal/mol 이었다. C-phenyl 고리상 R-치환기와 수소 원자를 제외한 가장 낮은 에너지를

갖는 안정한 형태(conformer)의 template 분자에 training set 및 test set 중, 모든 분자들의 안정한 형태들을 atom-based fit 방법(Marshall 등, 1979)으로 3차원 공간상에 중첩시켜 정렬하였다(그림 2). 입체적으로 정렬된 양상으로부터 분자간 중첩에서 벗어난 C-phenyl 고리상의 R-치환기와 O-phenyl 고리상의 B-치환기들의 변화에 따라 살초 활성이 변화됨을 알 수 있었다.

부위 별 CoMFA 모델

두 초종의 부위별 총 46개 화합물을 training set로 설정하여 살초 활성값은 종속항 그리고 CoMFA 설명인자들을 독립항으로 1~3Å 범위에서 grid(Å)의 변화는 물론, CoMFA의 범위를 확장하기(Hasegawa 등, 1999) 위하여 standard field (S), indicator field (I), 및 hydrogen bond field (H)가 조합된 여러가지 조건에서 CoMFA 모델을 탐색하였다. 한 예로, 모델이 결정되는 과정을 살펴보기 위하여 grid 1.5Å에서 논피 줄기의 살초활성에 대하여 탐색된 모델들의 통계 결과들을 “표 2 및 3”에 각각 정리하였다.

먼저, 부가적 설명인자로서 clogP를 부가하지 않은 조건에서는 standard field와 indicator field가 조합된(SI) 경우에 유도된(표 2) 모델의 통계값($r^2_{cv}(q^2)=0.908$ 및 $r^2_{ncv}=0.976$)이 가장 양호하였다. 그리고 소수성장이 활성에 기여하는지를 알아보기 위하여 clogP를 부가하여 유도된 모델의 통계값을 “표 3”에 요약하였다. 3가지 field가 모두 조합된 조건(SIH)에서 clogP를 가하여 조합하였을 경우(표 3)가 clogP를 가하지 않았을 경우보다(표 2) 예측성이 향상된 통계값($r^2_{cv}(q^2)=0.924$, 및 $r^2_{ncv}=0.971$)를 나타내었다. 이와 같은 방법으로 두 초종의 부위별로 유도된 가장 양호한 4개의 CoMFA 모델들의 통계분석 결과를 “표 4”에 정리하였다. 각 경우 space grid는 1.0~2.0Å 범위이었고 잠재변수를 의미하는 성분 수는 4~5이었다. 모델에 있어서 예측성의 정량적 척도인 cross-validated value, $r^2_{cv}(q^2)$; predictivity)는 벼가 0.625~0.813 논피가 0.904~0.924이었으며 여기에서 $r^2_{cv}(q^2)$ 값은 최상의 예측성 CoMFA식을 얻기 위하여 얼마나 많은 component가 필요한가를 의미한다. 설명인자와 그들 각 활성 간 상관성(r^2_{ncv} ; goodness of fit)은 벼가 0.928~0.962이고 논피가 0.971~0.977이었으며 표준오차(SEE)와 F 값도 같은 경향이였다.

따라서 q^2 및 r^2_{ncv} 값은 CoMFA 설명 인자들과 분자들의 활성 사이에 중요한 예측성과 상관성을 뜻한다.

Table 1. Observed values (Obs.), predicted values (Pred.) 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.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
01	H	4.27	4.29	-0.02	4.45	4.49	-0.04	4.41	4.44	-0.03	4.37	4.34	0.03
02	2-F	4.19	4.16	0.03	4.25	4.33	-0.08	4.41	4.47	-0.06	4.37	4.57 ^{c)}	-0.20 ^{c)}
03	2-Cl	4.19	4.07 ^{c)}	0.12 ^{c)}	4.48	4.49	-0.01	4.38	4.32	0.06	4.40	4.41	-0.01
04	2-OCH ₃	4.22	4.14	0.08	4.47	4.43	0.04	4.41	4.44	-0.03	4.42	4.42	0.00
05	2-CN	3.95	3.95	0.00	4.41	4.40	0.01	4.36	4.37	-0.01	4.25	4.26	-0.01
06	2-NO ₂	4.02	4.15	-0.13	4.39	4.38	0.01	4.37	4.38	-0.01	4.26	4.25	0.01
07	3-F	4.12	4.09	0.03	4.40	4.33	0.07	4.39	4.38	0.01	4.35	4.39	-0.04
08	3-Br	4.07	4.04 ^{c)}	0.03 ^{c)}	4.48	4.47	0.01	4.26	4.27	-0.01	4.29	4.34	-0.05
09	3-Cl	4.02	4.11	-0.09	4.42	4.46	-0.04	4.31	4.28	0.03	4.33	4.30	0.03
10	3-CN	4.05	4.06	-0.01	4.44	4.46	-0.02	4.33	4.30	0.03	4.28	4.28	0.00
11	3-OCH ₃	4.32	4.30	0.02	4.49	4.46	0.03	4.43	4.38	0.05	4.37	4.29	0.08
12	4-F	4.22	4.20	0.02	4.40	4.38	0.02	4.46	4.29 ^{c)}	0.17 ^{c)}	4.47	4.22 ^{c)}	0.25 ^{c)}
13	4-Cl	4.14	4.06	0.08	4.45	4.43	0.02	4.19	4.20 ^{c)}	-0.01 ^{c)}	4.29	4.27	0.02
14	4-Br	4.08	3.99	0.09	4.49	4.44	0.05	4.34	4.19	0.15	4.32	4.28	0.04
15	4-OCH ₃	4.20	4.21	-0.01	4.48	4.55	-0.07	4.43	4.40	0.03	4.39	4.39	0.00
16	4-CN	4.15	4.15	0.00	4.48	4.29 ^{c)}	0.19 ^{c)}	4.40	4.23 ^{c)}	0.17 ^{c)}	4.33	4.32	0.01
17	2,4-Cl ₂	3.98	3.92	0.06	4.44	4.47 ^{c)}	-0.03 ^{c)}	4.10	4.20	-0.10	4.36	4.31	0.05
18	3,5-(CH ₃) ₂	4.20	4.21	-0.01	4.25	4.21	0.04	4.38	4.41	-0.03	4.26	4.26	0.00
19	4-CF ₃	3.85	4.06 ^{c)}	-0.21 ^{c)}	4.19	4.19	0.00	4.11	4.10	0.01	4.15	4.13	0.02
20	3,4-Cl ₂	3.80	3.89	-0.09	4.68	4.34 ^{c)}	0.34 ^{c)}	4.10	4.13	-0.03	4.24	4.29	-0.05
21	H	4.75	4.69	0.06	4.92	4.81	0.11	4.95	4.93	0.02	4.97	4.92	0.05
22	2-F	4.69	4.51 ^{c)}	0.18 ^{c)}	4.82	4.81	0.01	4.91	4.93	-0.02	5.06	5.05	0.01
23	2-Cl	4.51	4.49	0.02	4.77	4.79	-0.02	4.95	4.93	0.02	4.97	4.94	0.03
24	2-OCH ₃	4.56	4.60	-0.04	4.85	4.87	-0.02	4.83	4.95 ^{c)}	-0.12 ^{c)}	4.98	4.97	0.01
25	2-CN	4.30	4.45 ^{c)}	-0.15 ^{c)}	4.57	4.78 ^{c)}	-0.21 ^{c)}	4.90	4.91	-0.01	4.93	4.96 ^{c)}	-0.03 ^{c)}
26	2-NO ₂	4.77	4.67	0.10	4.58	4.63	-0.05	4.90	4.87	0.03	4.88	4.83	0.05
27	3-F	4.50	4.48	0.02	4.70	4.72	-0.02	4.91	4.94	-0.03	5.00	4.95 ^{c)}	0.05 ^{c)}
28	3-Br	4.34	4.35	-0.01	4.68	4.65	0.03	4.85	4.87	-0.02	4.95	4.97	-0.02
29	3-Cl	4.60	4.52	0.08	4.74	4.77	-0.03	4.83	4.82	0.01	4.93	4.88	0.05
30	3-CN	4.34	4.29	0.05	4.49	4.56	-0.07	4.93	4.94	-0.01	4.92	4.96	-0.04
31	3-OCH ₃	4.67	4.73	-0.06	4.79	4.82	-0.03	4.79	4.85	-0.06	4.89	4.89	0.00
32	3-NO ₂	4.53	4.53	0.00	4.69	4.69	0.00	4.95	4.93	0.02	4.91	4.92	-0.01
33	4-Cl	4.57	4.36 ^{c)}	0.21 ^{c)}	4.86	4.69	0.17	4.89	4.83	0.06	4.90	4.84 ^{c)}	0.06 ^{c)}
34	4-Br	4.30	4.45	-0.15	4.69	4.70	-0.01	4.87	4.87	0.00	4.85	4.89	-0.04
35	4-OCH ₃	4.43	4.57 ^{c)}	-0.14 ^{c)}	4.77	4.78	-0.01	4.78	4.98 ^{c)}	-0.20 ^{c)}	4.97	4.93	0.04
36	4-NO ₂	4.56	4.51	0.05	4.60	4.62	-0.02	5.03	5.03	0.00	4.92	4.95	-0.03
37	4-CN	4.65	4.60	0.05	4.58	4.58	0.00	4.91	4.91 ^{c)}	0.00 ^{c)}	4.91	4.90	0.01
38	2,6-Cl ₂	4.48	4.52	-0.04	4.83	4.82	0.01	4.83	4.83	0.00	4.91	4.92	-0.01
39	2,4-Cl ₂	4.24	4.34	-0.10	4.76	4.79	-0.03	4.82	4.79	0.03	4.80	4.82	-0.02
40	2,4-(CH ₃) ₂	4.59	4.53	0.06	4.88	4.87	0.01	4.92	4.95	-0.03	4.96	5.00	-0.04
41	3,5-(CH ₃) ₂	4.59	4.57	0.02	4.82	4.78	0.04	4.97	4.91	0.06	5.00	4.98	0.02
42	4-CF ₃	4.66	4.61	0.05	4.60	4.58	0.02	4.72	4.75	-0.03	4.75	4.76	-0.01
43	3,4-Cl ₂	4.37	4.34	0.03	4.67	4.66	0.01	4.83	4.80	0.03	4.95	4.90	0.05

Table 1. (Continued)

No.	Sub.(R)	ORY. (shoot)			ORY. (root)			ECH. (shoot)			ECH. (root)		
		Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Obs.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
44	2-F	4.91	4.89	0.02	4.93	4.82	0.11	4.85	4.80	0.05	4.82	4.82	0.00
45	2-Cl	4.85	4.81	0.04	4.70	4.75	-0.05	4.65	4.59	0.06	4.67	4.60	0.07
46	2-OMe	4.89	4.92	-0.03	4.85	4.87	-0.02	4.83	4.83	0.00	4.27	4.71 ^{c)}	-0.44 ^{c)}
47	2-CN	4.86	4.77	0.09	4.78	4.76 ^{c)}	0.02 ^{c)}	4.77	4.75	0.02	4.75	4.52 ^{c)}	0.23 ^{c)}
48	2-NO ₂	4.91	4.93	-0.02	4.71	4.67	0.04	4.72	4.70	0.02	4.51	4.50	0.01
49	3-F	4.84	4.87	-0.03	4.39	4.76 ^{c)}	-0.37 ^{c)}	4.70	4.75	-0.05	4.72	4.68	0.04
50	3-CN	4.88	4.86	0.02	4.88	4.80	0.08	4.36	4.67 ^{c)}	-0.31 ^{c)}	4.31	4.50 ^{c)}	-0.19 ^{c)}
51	3-OMe	4.90	5.05 ^{c)}	-0.15 ^{c)}	4.85	4.86	-0.01	4.66	4.73 ^{c)}	-0.07 ^{c)}	4.38	4.49	-0.11
52	4-NO ₂	4.68	4.71	-0.03	4.92	4.57 ^{c)}	0.35 ^{c)}	4.65	4.64	0.01	4.61	4.60	0.01
53	4-Cl	4.77	4.81	-0.04	4.54	4.67	-0.13	4.35	4.48	-0.13	4.27	4.42	-0.15
54	2,4-(Me) ₂	4.63	4.70	-0.07	4.22	4.75 ^{c)}	-0.53 ^{c)}	4.72	4.63	0.09	4.64	4.54	0.10
	Ave. ^{d)}			0.04			0.03			0.03			0.03
	Test.Ave. ^{e)}			0.14			0.25			0.13			0.18

A=1~20, B=21~43 & C=44~54., ^{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.

그리고 이들 수치들에 기초하여 CoMFA 모델은 논피 줄기($q^2=0.924$) > 뿌리 > 벼 줄기 > 뿌리($q^2=0.625$) 등의 순으로 논피가 벼에 대한 경우보다 좋은 모델이었다. 한 예로, 논피 줄기를 대상으로 한 training set와 test set 의 화합물들에 대한 관측된 활성값(obs.pI₅₀)과 CoMFA 모델로 계산한 예측값(pre.pI₅₀)과의 관계(그림 3)로부터 두 값들이 서로 좋은 상관관계를 보이고 있다.

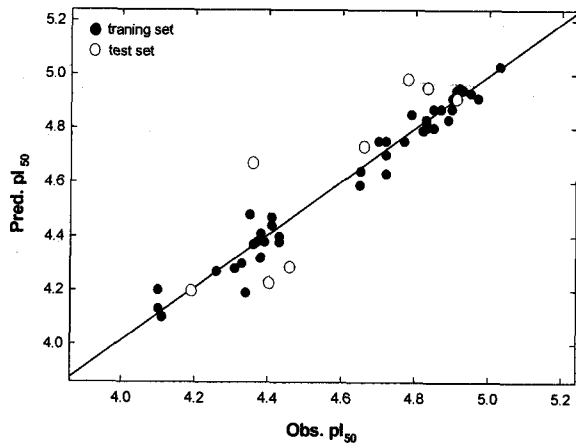


Fig. 3. Relationships between observed values (Obs.) for the herbicidal activities against shoot of barnyardgrass (ECH) and predicted values (Pred.) by CoMFA model.

좋은 모델들은 CoMFA 설명인자로 입체장(SF; 74.3~87.4%), 정전기장(EF; 10.10~18.5%) 그리고 소수성장(clogP; 1.10~8.30%)이 기여하였다.

부위 별, 4가지 경우 모두 입체장 > 정전기장 > 소수성장의 순으로 입체장이 가장 큰 영향을 미친 반면에 소수성장이 가장 작은 영향을 미치는 경향이었으므로 입체장이 살초 활성에 매우 중요한 요소이었다.

일반적으로 소수성은 항상 분자의 입체적 성질과 밀접한 관계가 있기 때문에 입체성이 크다면 소수성이 큰 경향을 나타낼 뿐 아니라, 대부분 생물 활성에서 분산력에 의한 소수성이 지배적인 역할을 한다(성, 2002). 상용중인 제초제 120여 품목의 유효성분에 대하여 관측된 소수성 상수(logP)는 약제의 생체내 침투와 이행에 있어서 가장 중요한 척도로서 logP=-4.60~5.78 범위이나(성 등, 2003a) 대부분 주로 약 logP=3.0 부근에서 분포율을 나타내고 있다(Tanaka 등, 1995).

그럼에도 불구하고 본 연구의 CoMFA 모델에서 소수성장의 기여 정도가 작은 이유는 기질 화합물들의 logP가 A=0.47~5.42, B=2.45~7.40(송, 2002) 및 C=3.89~5.17(양, 2001)이므로 기질 분자들이 살초 활성을 발현하는데 이미 충분한 정도의 소수성을 유지하고 있기 때문이라고 판단된다.

Table 2. Results of the advanced CoMFA analyses of several different field combinations with grid 1.5 Å spacing and atom based alignment in case of barnyardgrass (ECH) shoot

Fields & combination	S	I	H	SI ^{a)}	SH	IH	SIH
No. of component	5	4	5	5	4	4	4
Cross-validated r_{cv}^2 (q^2)	0.897	0.894	0.714	0.908	0.911	0.891	0.908
No cross-validated r_{ncv}^2	0.968	0.970	0.929	0.976	0.965	0.969	0.968
Standard error (s)	0.052	0.050	0.078	0.046	0.054	0.051	0.052
F value ^{b)}	244.424	326.118	104.696	319.049	284.071	319.264	306.247
Steric field	1.000	1.000	1.000	0.709	0.765	1.000	0.821
Electrostatic field	-	-	-	0.291	0.235	-	0.179

Abbreviation : Fields: S=standard, I=indicator, H=hydrogen bond, ^{a)}the good model, ^{b)}fraction of explained versus unexplained variance.

Table 3. Results of the advanced CoMFA analyses of several different field combinations using additional descriptor clogP (grid 1.5 Å spacing and atom based alignment) in case of barnyardgrass(ECH) shoot

Field & combination	S	I	H	SI	SH	IH	SIH ^{a)}
No. of component	4	5	5	4	4	4	4
Cross-validated r_{cv}^2 (q^2)	0.925	0.896	0.843	0.924	0.925	0.905	0.924
No cross-validated r_{ncv}^2	0.961	0.972	0.957	0.969	0.967	0.970	0.971
Standard error (s)	0.057	0.049	0.060	0.051	0.053	0.050	0.050
F value ^{b)}	252.289	276.797	178.824	323.881	296.418	333.087	337.870
clogP	0.124	0.007	0.170	0.085	0.110	0.061	0.072
Steric field	0.389	0.993	0.830	0.610	0.648	0.939	0.743
Electrostatic field	0.487	-	-	0.305	0.242	-	0.185

Abbreviation : Fields: S=standard, I=indicator, H=hydrogen bond, ^{a)}the best model, ^{b)}fraction of explained versus unexplained variance.

CoMFA 등고도의 분석

CoMFA 분석 방법을 활용하는 잇점 중의 하나는 등고도(contour map)에서 입체적 및 정전기적인 특징과 생물활성 사이에서 유도된 CoMFA 모델의 상관성에 의하여 분자들의 생물학적 활성을 예측할 수 있다는 점이다. 따라서 기질분자 중에서 가장 활성이 큰 B-치환기가 도입된 분자의 형태상에 atom based fit 방식으로 분자들을 정렬하고 설명인자를 첨가한 CoMFA 모델들의 등고도로부터 입체적이고 정전기적인 특징들이 살초 활성에 미치는 경향을 분석하기 위하여 두 초종의 뿌리부위를 대상으로 하는 살초 활성에 관한 CoMFA 모델의 등고도를 “그림 4” 및 “그림 5”에 각각 나타내었다. 전체적으로 CoMFA field의 경향은 비슷하였으나 주로 R-치환된 C-phenyl 고리와 O-phenyl 고리상 X-치환기로서 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-

indazolyl 치환기가 도입된 두 부분이 서로 다르다.

등고도 상 지시하는 색상에 따라 푸른색(blue)은 양 하전 증가 그리고 붉은색(red)은 음 하전 증가로 활성이 증가함을 의미하며 녹색(green)은 steric bulky한 정도가 클수록 활성이 증가를 또한, 노란색(yellow)은 steric bulky한 정도가 작을수록 활성이 증가하는 기질 분자의 성질들을 각각 제시한다.

한 예로, 벼 뿌리의 살초활성에 기여하는 입체성 및 정전기성의 CoMFA field 기여들에 관한 등고도를 “그림 4”에 제시하였다. C-phenyl 고리상 R-치환기의 meta-위치에는 음 하전이 증가하고 para-위치에는 양 하전이 증가하며 입체적으로 클수록 활성 증가를 촉진시킬 것을 의미하고 있다. 반면, 논피에 관한 모델의 등고도, “그림 5”에서는 C-phenyl 고리상 ortho-위치가 입체적으로 크고 음 하전이 증가할수록 meta-위치에

는 입체적으로 크고 *para*-위치에는 양 하전이 증가할수록 활성이 증가될 것이 예상된다. 그리고 벼에 관한 모델의 등고도, “그림 4”에서 *O*-phenyl 고리상 X-치환기의 윗 부분은 주로 양 하전이 증가 할수록 활성이 증가하는 반면에 치환기의 왼편 끝 부분은 입체적으로는 클수록 활성이 감소하고 아래 부분은 양하전 증가로 활성이 증가 할 것으로 보여진다. 또한, 논피뿌리의 살초활성에 기여하는 입체성 및 정전기성의 CoMFA field 기여도에 관한 등고도를 “그림 5”에 제시하였다. X-치환기의 윗 부분에는 입체적으로 클수록 활성 개선의 조짐이 매우 크고 아래 부분은 음 하전 증가로 활성이 증가 될 것으로 나타났다. 이와 같은 등고도 분석결과, *C*-phenyl 고리상 R-치환기 변화에 따른 등고도는 유사하였으나 *O*-phenyl 고리상 B-치환기 부분은 두 초종 간 다른 경향을 나타내고 있다. 그러므로 R-치환기보다는 X-치환기 부분을 변화 시킴으로 이종간 선택성과 활성 개선을 기대할 수 있을 것으로 믿어진다.

Table 4. Summary of analyses from the best CoMFA models based on atom based fit alignment and three field combinations (SIH)

Values	Rice plant		Barnyardgrass	
	shoot	root	shoot	root
NC ^{a)}	46	46	46	46
Grid(Å)	1.0	2.0	1.5	2.0
NOC ^{b)}	5	5	4	5
$r_{cv}^2(q^2)$	0.813	0.625	0.924	0.904
r_{nev}^2	0.962	0.928	0.971	0.977
SEE ^{c)}	0.063	0.056	0.050	0.048
F ^{f)}	205.144	103.116	337.870	336.849
logP	0.083	0.039	0.072	0.011
Steric ^{d)}	0.774	0.860	0.743	0.874
EF ^{e)}	0.143	0.101	0.185	0.115
PRESS ^{f)}	0.156	0.123	0.102	0.091
ARTS ^{g)}	0.046	0.037	0.034	0.032
ARTS ^{h)}	0.148	0.255	0.131	0.181

^{a)}Number of compounds in training set., ^{b)}number of component, ^{c)}standard error estimate, ^{d)}steric field, ^{e)}electrostatic field, ^{f)}predictive residual sum of squares of the training set, ^{g)}average residual of training set, ^{h)}average residual of test set.

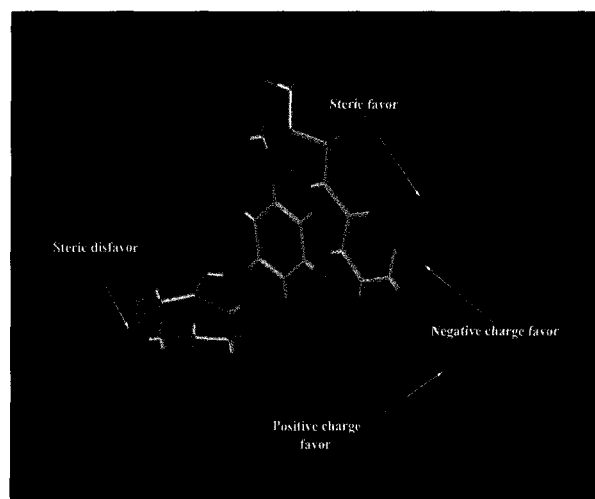


Fig. 4. CoMFA steric and electrostatic contour plots from atom based alignment with ClogP as additional descriptor. 2-fluoro substituent (22) is shown in capped sticks: the herbicidal activity against root of rice plant (ORY).

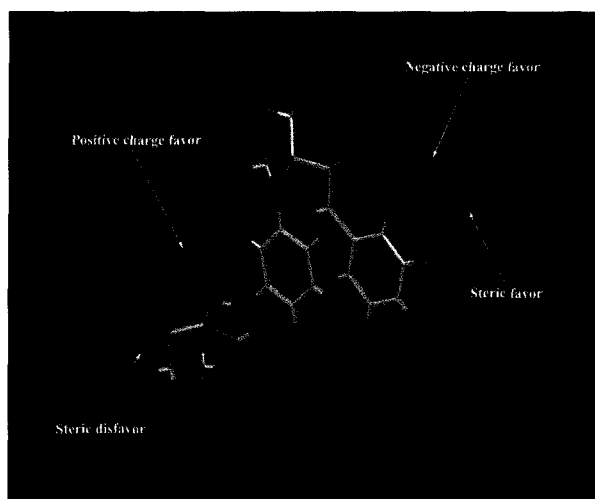


Fig. 5. CoMFA steric and electrostatic contour plots from atom based alignment with ClogP as additional descriptor. 2-fluoro substituent (22) is shown in capped sticks: the herbicidal activity against root of barnyard grass (ECH).

한편, 두 초종의 줄기 부위에 대한 살초 활성에 있어서, 벼의 경우에는 *C*-phenyl 고리상 *ortho*, *meta*-위치에 양 하전의 증가와 *para*-위치에는 음 하전이 증가하고 입체적으로 클수록 활성이 증가하며 X-치환기가 입체적으로 클수록 활성 증가를 초래 할 것이다. 반면에 논피는 R-치환기와 X-치환기가 입체적으로 클수록 활성이 감소할 것으로 예상되었다.

이와 같이 CoMFA 등고도의 graphic analyses 결과에 따라 기질분자의 정량적인 구조와 활성간의 관계(QSAR)를 설명할 뿐 아니라, 살초활성 메커니즘을 이해함으로써 활성이 개선된 새로운 분자를 설계하고 선택하는데 효과적으로 사용된다. 따라서 C-phenyl 고리상 R-치환기보다 protocoxin 저해제로서 필수 골격으로 인식되는 O-phenyl 고리 즉, 2-fluoro-4-chloro-5-alkoxyaniline 고리상 5-위치에 X-치환기로서 alkoxyanilino-치환기가 도입된 분자들의 구조변형(molecular design)이 논피에 대한 선택성과 살초 활성을 증진시킬 것이라 결론지을 수 있다.

모델의 예측성과 분자설계

두 종류의 부위 별, training set의 예측오차 합의 자승값(PRESS)이 0.046~0.032의 값을 보이므로(표 4) 이들 CoMFA 모델들이 매우 좋은 모델임을 입증하고 있다. 뿐만 아니라, test set에 대한 예측값으로부터 화합물 대부분은 관측값과 예측값의 차(Dev.)가 관측값의 $\pm 10\%$ 미만의 값을 보였을 뿐 아니라, 두 종류의 부위별로 오차의 평균값이 0.13~0.25이므로 관측값과 예측값 사이에 좋은 일치성을 보였다(표 1).

CoMFA 모델들로 optimizing QSAR을 실시하여 309개의 치환체들을 대상으로 설계된 화합물은 방제 대상인 논피에 관한 CoMFA 등고도에서(그림 5) 언급된 바와 같이, C-phenyl 고리상 R-치환기로서 meta-위치에는 입체적으로 크고 para-위치에는 양 하전이 증가할수록 활성이 클 것으로 예측된 화합물은 B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl-치환기와 R=3-trimethylammoniummethyl (obs. pI_{50} =5.26) 치환기가 도입된 화합물이었다. 이는 data set 중에서 가장 살초 활성이 큰, 2-fluoro 치환체(22) (obs. pI_{50} =5.06)에 비하여 활성값 차이(Δ obs. pI_{50} =0.20)가 크지 않았다. 그러므로 논피에 대한 살초 활성을 개선하기 위하여는 C-phenyl 고리상 치환기 변화보다는 O-phenyl 고리상 X-치환기가 도입되므로서 선택성과 살초 활성을 더욱 증진시킬 것이라 판단되었다.

이 같은 사실들에 기초하여 다음 연구는 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene 유도체의 구조 변화에 따른 살초 활성에 관한 구체적인 정보를 얻기 위한 노력의 일환으로 3D-QSAR 방법 중 하나인 비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 방법으로 검토하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 한국 과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 지원 연구비(No. R11-2002-100-03002-2)의 일부와 2004년도 농과계 특성화 대학의(인삼 및 과채류) 지원 보조금(Computer software)에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

인용문헌

- Raichurkar, A. V. and V. M. Kulkarni (2003) Understanding the antitumor activity of novel hydroxysemicarbazide derivatives as ribonucleotide reductase inhibitors using CoMFA and CoMSIA, *J. Med. Chem.* 46:4419~4427.
- Fujita, T. (2002) Similarities in bioanalogous structural transformation patterns, Ch. 15, *In Agrochemical Discovery, Insect, Weed, and Fungal control* (ed Baker, D. R. and N. K. Umetsu) ACS Symposium Series No. 774., American Chemical Society, Washington, DC.
- HRAC (2002) Publications, Classification of Herbicides according to Mode of Action, Herbicide Resistance Action Committee./Plant protection. Org./HRAC.
- Hasegawa, K., Arakawa, M. and Funatsu, K. (1999) Rational choice of bioactive conformations through use of conformation analysis and 3-way partial least squares modeling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 50:253~261.
- John K. Buolamwini and H. Assefa (2002) CoMFA and CoMSIA 3D QSAR and docking studies on conformationally-restrained cinnamoyl HIV-1 integrase inhibitors: Exploration of a binding mode at the active site. *J. Med. Chem.* 45:841~852.
- Kerr, R. et al., (1994) Parallel helix bundles and ion channels: molecular modeling via simulated annealing and restrained molecular dynamics, *Biophys. J.* 67: 1501~1515,
- Kubinyi, H. (1993) 3D QSAR Drug Design, Theory, Methods and Applications, ESCOM. Leiden.
- Marshall, G. R., C. D. Barry, H. E. Bosshard, R. A. Dammkoehler, D. A. Dunn (1979) The conformational

- parameter in drug design: active analog approach. pp.205-226, *In Computer-assisted drug design* (ed Olsen, E. C. and R. E. Christoffersen). American Chemical Society, Washington, D.C.
- Pallett, K. E. (1997) Herbicide target sites, recent trends and new challenges. *Proceeding of Brighton Crop Protection Conference-Weeds* 575~578.
- Stahle, L. and S. Wold (1988) Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research, *Progr. Med. Chem.* 25:292~334,
- Tanaka, S., M. Takahashi, Y. Funaki, K. Izumi, H. Takano and Miyakado (1995) Hydrophobicity and Systemic Activities, of Fungicidal Triazoles and Blaching Herbicidal Compounds, Ch. 8., pp.108~119, *In Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry* (ed Hansch, C. and T. Fujita), ACS Symposium Series No. 606, American Chemical Society, Washington, D.C., USA.
- Theodoridis, G., J. T. Bahr, F. W. Hotzman, S. Sehgel and D. P. Suarez (2000) New generation of protox-inhibiting herbicides, *Crop Protection* 19: 533~535.
- Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO 63144-2913, U.S.A., <http://www.tripos.com/Bookshelf/qsar/>.
- Wold, S., Albano, C., Dunn, W.J., Edlund, U., Esbensen, K., Geladi, P., Hellberg, S., Johanasson, E., Lindberg, W. and Sjostrom, M. (1984) *Multivariate Data Analysis in Chemistry*, pp. 17-94., *In Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry* (ed Kowalski, B. R.) Reidel, Dordrecht, Netherlands.
- 송중환 (2002) 광역동 살초성 5-Isloxazolinylmethoxy-치환 cyclic imide 유도체의 정량적인 구조와 활성과의 관계, 충남대학교 대학원, 박사학위 논문.
- 성낙도 (2002) 정량적인 구조활성 상관(QSAR) 기법에 의한 새로운 농약의 개발, II. 자유 에너지 직선관계(LFER)와 설명인자들., *한국농약과학회지*, 6(4): 231~243.
- 성낙도, 송선섭 (2003a) 제초제의 활성성분에 대한 물리-화학 파라미터의 범위, *한국농약과학회지* 7(1):58~65.
- 성낙도, 옥환석, 송중환, 이용구 (2003b) *N*-치환 phenyl-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide와 *N*-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 유도체들의 생장 저해활성에 관한 비교 분자장 분석(ComFA), *한국농약과학회지* 7(2):75~82.
- 성낙도, 옥환석, 정현준, 송중환 (2003c) 제초성 *N*-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 유도체의 정량적인 구조-활성관계와 분자 유사성, *한국농약과학회지* 7(2):100~107.
- 양숙영 (2001) *N*-5-(isoxazolinemethoxyphenyl)-3,4-dimethylpyrrol-2,5-dione 유도체의 제초활성에 관한 2D 및 3D 구조-활성관계의 분석, 충남대학교 대학원 석사학위 논문.

Understanding the protox inhibition activity of novel 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives using comparative molecular field analysis (CoMFA) methodology

Nack-Do Sung*, Jong-Hwan Song¹, Sook-Young Yang and Kyeng-Yong Park (*Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-784, Korea.*, ¹*Cytosine Laboratory, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusong, Daejeon 305-606, Korea*)

Abstract : Three dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) studies for the protox inhibition activities against root and shoot of rice plant (*Oryza sativa* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) by a series of new A=3,4,5,6-tetrahydrophthalimino, B=3-chloro-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazolyl and C=3,4-dimethyl-maleimino group, and R-group substituted on the phenyl ring in 1-(5-methyl-3-phenylisoxazolin-5-yl)methoxy-2-chloro-4-fluorobenzene derivatives were performed using comparative molecular field analyses (CoMFA) methodology with Gasteiger-Huckel charge. Four CoMFA models for the protox inhibition activities against root and shoot of the two plants were generated using 46 molecules as training set and the predictive ability of the each models was evaluated against a test set of 8 molecules. And the statistical results of these models with combination (SIH) of standard field, indicator field and H-bond field showed the best predictability of the protox inhibition activities based on the cross-validated value r^2_{cv} . ($q^2=0.635\sim0.924$), conventional coefficient ($r^2_{nev.}=0.928\sim0.977$) and PRESS value (0.091~0.156), respectively. The activities exhibited a strong correlation with steric (74.3~87.4%), electrostatic (10.10~18.5%) and hydrophobic (1.10~8.30%) factors of the molecules. The steric feature of molecule may be an important factor for the activities. We founded that an novel selective and higher protox inhibitors between the two plants may be designed by modification of X-substitents for barnyardgrass based upon the results obtained from CoMFA analyses.

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

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