

모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대한 N-Phenylbenzenesulfonamide 유도체의 살균활성에 미치는 구조적 특성

조윤기¹ · 장기운¹ · 성낙도^{1*}

The Structural Characteristics That Influence on the fungicidal activity of N-Phenylbenzenesulfonamide Derivatives against Dapping-off (*Pythium ultimum*)

Yun-Gi Cho¹ · Ki-Woon Chang¹ · Nack-Do Sung^{1*}

ABSTRACT

The structural characteristics that influence on the fungicidal activities of *N*-phenylbenzenesulfonamide (1~24) and *N*-phenyltheinylsulfonamide (25~30) derivatives against Damping-off (*Pythium ultimum*) were discussed quantitatively using the models of molecular holographic quantitative structure-activity relationships (HQSAR). From the based on these findings, the statistical results of the optimized HQSAR F-3 model showed better predictability (r_{cv}^2 or $q^2=0.581$) and correlation coefficient ($r_{ncv}^2=0.963$). And, from the analytical results of the atomic contribution maps on the fungicidal activities, the most active compound is $R_1=2$ -fluoro-4-chloro substituent (4) and the most inactive one is $R_1=4$ -methoxy substituent (20). It was found that the 2-fluoro-4-chlorophenyl group as a R_1 -group was an important structure and a characteristic factor not only for herbicidal activity but also for fungicidal activity.

Key words : HQSAR, Fungicidal activity, *N*-phenylbenzenesulfonamides, Dapping-off (*Pythium ultimum*).

¹ 충남대학교 농업생명과학대학 응용생물환경화학식품학부 생물환경화학전공, 유기합성 및 생물활성제어실험실(Division of Applied Biology, Chemistry & Food Sciences, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

* 교신저자 : 성낙도(E-mail: ndsung15@hanmail.net, Tel: 042-821-6737)

I. 서 론

Sulfonamide계 유도체들은 농업용 약제 ‘Thomlow (2006)’ 중 살충제, 살균제를 위시하여 ‘Andrea 등(2000)’ 제초제로서의 용도가 잘 알려져 ‘Sung 등(1995)’ 있다. 또한, 이들 화합물들은 의약품으로서 인슐린 방출자극 및 carbonic anhydrase 저해활성 ‘Scozzafava 등(2003)’을 나타낼 뿐 아니라, 5-HT₆, β₃-adrenergic 수용체 및 thrombin 저해제 ‘Bouissane 등(2006)’ 등으로도 작용한다고 보고하고 있다. 특히, 이들 sulfonamide계 화합물들은 높은 제조활성을 나타내며 xanthotoxin, bergapten 및 visnagin을 포함하는 살균활성 및 항균활성에 관련한 연구 ‘El-Sharief 등(2007)’도 활발하게 이루어지고 있다.

근래, 저자들은 시들음병균(*Fusarium oxysporum*) ‘Sung 등(2008)’, 고추역병균(*Phytophthora capsici*) ‘Sung 등(2007a)’ 및 모잘록병균(*Pythium ultimum*) ‘Sung 등(2007b)’ 등에 대한 *N*-phenylbenzenesulfonamide 유도체들의 살균활성에 관한 3차원적인 구조와 활성과의 관계(3D-QSAR) ‘Akamatsu (2002)’를 보고한 바 있다.

본 연구에서는 모잘록병균에 대한 *N*-phenylbenzenesulfonamide 유도체들의 치환기(R₁-R₅) 변화에 따른 살균활성에 관하여 분자 홀로그래픽적인 정량적 구조와 활성과의 관계(HQSAR) ‘Heritage 등(1999)’로부터 살균활성에 미치는 구조적 특성을 검토하였다.

8.0) 프로그램(Tripos Inc.)을 사용하였다. 기질 분자로서 *N*-phenylbenzenesulfonamide(1~24) 및 *N*-phenyltheinylsulfonamide(25~30) 유도체(Fig. 1)들의 모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대한 살균 활성값(pI₅₀)은 문헌값 ‘Kim 등(2000); Kang 등(2002)’을 이용하였다. 살균활성과 분자 조각 크기 사이의 관계를 알아보기 위하여 분자 조각의 수를 2~10 bin 크기로 생성시키고 분자의 홀로그래프 길이(53-401)를 넓게 선택하여 계산을 실행하였다. 분자 홀로그래프 길이의 조건에서 다양한 분자 조각 특징인 atoms, bonds, connections, hydrogen atom, H-bond donor 및 H-bond acceptor들의 조합에 따른 모델들을 유도하였다. 여기에서는 분자 조각의 크기가 7-10 bin인 경우에 가장 양호한 통계값을 얻을 수 있었던 조건에서 분자 조각의 특징들을 변화시켜 최종적으로 가장 좋은 통계값을 갖는 HQSAR 모델을 탐색하였다.

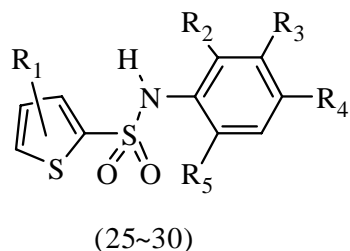
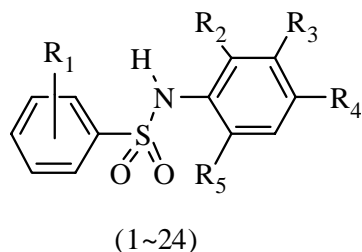


Fig. 1. General structures of *N*-phenylbenzenesulfonamide (1~24) and *N*-phenyltheinylsulfonamide (25~30) analogues.

II. 재료 및 방법

1. 설명 인자들의 계산

분자 모델링과 HQSAR의 실행은 Sybyl(Ver.

Table 1. Observed fungicidal activity (*Obs.pI₅₀*) of N-phenylbenzenesulfonamide and N-phenyltheinylsulfonamide derivatives against *Pythium ultimum* and predicted fungicidal activity (*Pred.pI₅₀*) by the optimized HQSAR F-3 model for the training set

No.	Substituents (R)					Obs.pI ₅₀	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
	1	2	3	4	5			
1	4-Bromo	Cl	H	NO ₂	H	5.08	4.95	0.13
2	4-Methoxy	Cl	H	NO ₂	H	4.72	4.64	0.08
3	3-Methoxy	Cl	H	NO ₂	H	4.57	4.59	-0.02
4	2-Fluoro, 4-Chloro	Cl	H	NO ₂	H	5.14	5.20	-0.06
5	2-Methyl, 4-Fluoro	Cl	H	NO ₂	H	4.58	4.58	0.00
6	3-Trifluoromethyl, 4-Bromo	Cl	H	NO ₂	H	4.44	4.47	-0.03
7	3,5-Dimethyl	Cl	H	NO ₂	H	4.82	4.83	-0.01
8	3-Methyl, 4-Bromo	Cl	H	NO ₂	H	4.76	4.72	0.04
9	3-Bromo, 2-Trifluoromethyl	Cl	H	NO ₂	H	4.43	4.39	0.04
10	2,5-Di(tri-fluoromethyl)	Cl	H	NO ₂	H	3.99	4.04	-0.05
11	4-Bromo	H	H	CF ₃	H	4.64	4.58	0.06
12	3-Methoxy	H	H	CF ₃	H	4.01	3.99	0.02
13	4-Methoxy	H	H	CF ₃	H	4.37	4.05	0.32
14	2-Methyl, 4-Fluoro	H	H	CF ₃	H	4.20	4.13	0.07
16	2-Fluoro, 4-Chloro	H	H	CF ₃	H	4.51	4.50	0.01
17	3,4-Dimethoxy	H	H	CF ₃	H	3.98	4.09	-0.11
18	4-Acetyl	H	H	CF ₃	H	4.22	4.18	0.04
19	2,5-Dimethoxy	H	H	CF ₃	H	4.08	4.11	-0.03
20	4-Methoxy	Cl	H	CF ₃	Cl	3.38	3.55	-0.17
21	3,4-Dimethoxy	Cl	H	CF ₃	Cl	3.75	3.61	0.14
23	4-Bromo	H	CF ₃	F	H	4.57	4.56	0.01
24	4-Methoxy	H	CF ₃	F	H	4.42	4.40	0.02
26	2,5-Dichlorothien-3-yl	Cl	H	NO ₂	H	4.70	4.80	-0.10
27	2,5-Dichlorothien-3-yl	H	H	CF ₃	H	4.45	4.48	-0.03
28	2,5-Dichlorothien-3-yl	Cl	H	CF ₃	Cl	4.17	4.08	0.09
29	2-thienyl	H	Cl	Cl	H	4.54	4.54	0.00
30	2-thienyl	H	CF ₃	F	H	4.44	4.43	0.01
Ave. ^{c)} (PRESS) ^{d)}						0.063	(0.228)	

^{a)}Predicted values, ^{b)}different between observed value and predicted value, ^{c)}average residual of training set,

^{d)}predictive residual sum of squares of the training set.

2. HQSAR 모델의 유도

Training set (n=27) 화합물(Table 1)에 대한 HQSAR 모델 'Heritage 등(1999)'을 유도하였으며 test set 화합물을 선정하기 위하여 살균 활성

군을 3등급(상: 5.0 이상, 중: 4.0이상-5.0 미만 및 하: 4.0 미만)으로 분류하였다. 상과 하로 분류되는 화합물 수가 너무 적으므로 상하 활성군의 화합물을 test set으로 선택하면 모델에 포함

되는 활성값이 너무 편중되기 때문에 중 활성군으로 분류된 등급에서 test set($n=3$)을 선택한 화합물(15, 22 및 25)을 대상으로 HQSAR 모델의 예측성을 판단하였다. HQSAR 모델은 leave-one-out(LOO) 교차확인 과정에 의하여 적절한 예측성(q^2 또는 $r_{cv.}^2$)이 결정된다. 그 다음에 비교차 확인방법을 이용하여 적절한 성분수를 대입 하므로써 적합성의 척도인 상관성($r_{ncv.}^2$)을 얻는다. 예측성이 q^2 값($r_{cv.}^2$)=0.50 이상 그리고 상관성이 $r_{ncv.}^2$ =0.90 이상일 경우에 적정모델로 간주한다. 최적화 된 적정 HQSAR 모델이 가지고 있는 구조와 살균활성에 관한 정보는 색깔로 암호화 된 기여도로 분석되었다. 또한, 적정모델에 의한 예측값($Pred.pI_{50}$)과 관측된 활성값($Obs.pI_{50}$)과의 차이값(Dev)의 합에 관한 PRESS(predictive residual sum of squares) 값은 작을수록 모델의 상관성과 예측성이 양호하다고 판단한다.

III. 결과 및 고찰

1. 살균활성의 경향

모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대하여 살균 활성을 나타내는 *N*-phenylbenzenesulfonamide(1~24) 및 *N*-phenyl-2-thienylsulfonamide(25~30) 유도체들의 치환기(R_1 - R_5) 변화에 따른(Fig. 1) 살균활성값(pI_{50})을 Table 1에 정리하였다. 30개의 화합물들의 관측된 살균활성값은 $Obs.pI_{50}=3.38\sim 5.14$ 의 범위이었고 가장 큰 활성값과 가장 낮은 활성값의 차이는 $\Delta Obs.pI_{50}=1.76$ 이었다. 모잘록병균에 대한 *N*-phenylbenzenesulfonamide 유도체들의 살균활성에 관한 3D-QSAR 분석결과, 비교 분자장 분석(CoMFA) 모델보다 비교분자 유사성지수 분석(CoMSIA) 모델이 통계적으로

양호하였다. 그리고 그 CoMSIA 모델에 의하면 *N*-phenyl 고리상 R_4 -치환기의 친수성과 수소결합 받게로서의 성질이 살균활성에 기여할 것으로 설명된 바 있었다(Sung 등, 2007b). 이같은 근거에 따라 대체로 R_4 -치환기가 전자 끌개일수록($\sigma>0$) 살균활성이 증가하는 경향을 나타내고 있으며 이러한 경향은 R_1 -치환기가 thienyl 구조인 경우에도 유사하였다.

2. HQSAR 모델의 분석

N-phenylbenzenesulfonamide(1~30) 유도체들의 치환기(R_1 - R_5) 변화에 따른 살균 활성값(pI_{50}) 값과의 관계를 알아보기 위하여 training set을 대상으로 HQSAR 모델을 유도하였다. 먼저, 분자조각의 크기의 영향을 조사하기 위하여 2~10 bin으로 변화에 따른 모델들의 통계값을 Table 2에 정리하였다. 그 결과, 분자 조각의 크기가 7~10 bin이고 best length는 307, 주성분수 4인 HQSAR F 모델이 가장 양호한 통계값을 보여주었다. 이 HQSAR F 모델에 기초하여 Table 3에서는 분자 조각의 크기가 7~10 bin인 조건에서 분자조각 특징의 변화에 따라 최적의 통계값을 갖는 모델을 탐색하였다. 분자조각의 특징으로서 atoms, bonds, connections, hydrogen atom, H-bond donor 및 H-bond acceptor가 사용되었다. 이 중, H-bond donor 및 acceptor 조건을 갖는 HQSAR F-3 모델이 양호한 예측성과 상관성($q^2=0.581$ 및 $r^2=0.963$)을 갖는 최적화된 모델임을 알 수 있었으며 분자 홀로그램의 길이는 353 bin 그리고 주성분 수는 6이었다. Fig. 2는 관측값($Obs.pI_{50}$)과 최적의 HQSAR F-3 모델로부터 예측된 살균활성값($Pred.pI_{50}$)과의 관계식($Pred.pI_{50}=0.959Obs.pI_{50}+0.164$, $n=27$, $s=0.092$, $F=418.250$, $r^2=0.971$ 및 $q^2=0.944$)을 나타내었다.

Table 2. HQSAR analyses for the influence of various *fragment sizes* on the key statistical parameters

Models	Best length		PLS analyses				
	Fragment size	Hologram	$r_{cv}^2 (q^2)$	SE _{cv.}	r_{ncv}^2	SE _{ncv.}	NC
A	2~5	257	0.672	0.231	0.790	0.185	2
B	3~6	353	0.673	0.231	0.812	0.175	2
C	4~7	353	0.688	0.225	0.822	0.170	2
D	5~8	257	0.692	0.224	0.813	0.174	2
E	6~9	257	0.658	0.236	0.785	0.187	2
F	7~10 ^{a)}	307	0.658	0.246	0.894	0.137	4

Notes: SE_{cv.}, cross-validated standard error., SE_{ncv.}, non-cross-validated standard error, NC., number of component. ^{a)}The best of fragment size.

Table 3. HQSAR analyses for various fragment distinction on the key statistical parameters using *fragment size* default (7~10)

Models	Best length		PLS analyses				
	Fragment distinctions	Hologram	$r_{cv}^2 (q^2)$	SE _{cv.}	r_{ncv}^2	SE _{ncv.}	NC
F	Connections	307	0.658	0.246	0.894	0.137	4
F-1	Atoms/bonds	83	0.667	0.233	0.772	0.193	2
F-2	Hydrogen atom	53	0.626	0.252	0.827	0.172	3
F-3 ^{a)}	H-bond donor/acceptor	353	0.581	0.286	0.963	0.085	6

Notes: SE_{cv.}, cross-validated standard error., SE_{ncv.}, non-cross-validated standard error., NC, number of component, ^{a)}The optimized HQSAR model.

Table 4. Observed activity (*Obs.PI₅₀*) and predicted activity (*Pred.PI₅₀*) for the test set

No.	Substituents (R)					Obs.PI ₅₀	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
	1	2	3	4	5			
15	3-Methyl, 4-Bromo	H	H	CF ₃	H	4.15	4.34	-0.19
22	4-Acetyl	H	Cl	Cl	H	4.26	4.62	-0.36
25	2-thienyl	Cl	H	NO ₂	H	4.57	4.72	-0.15
	Ave. ^{c)} (PRESS) ^{d)}					0.233	(0.188)	

^{a)}Predicted values, ^{b)} different between observed value and predicted value, ^{c)} average residual of test set,

^{d)} predictive residual sum of squares of the test set.

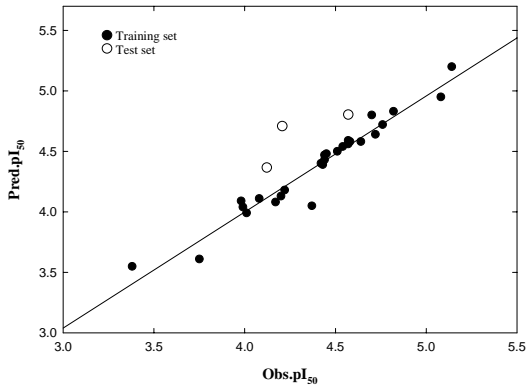


Fig. 2. Relationships between observed fungicidal activity(*Obs. pI₅₀*) against Dampning-off (*Pythium ultimum*) and predicted fungicidal activity(*Pred. pI₅₀*) by the optimized HQSAR model(For training set: $Pred.pI_{50}=0.959Obs.pI_{50}+0.164$, $n=27$, $s=0.092$, $F=418.250$, $r^2=0.971$ & $q^2=0.944$).

이 식으로부터 상관성과 예측성이 매우 양호함을 확인할 수 있었으며 test set 화합물들은 training set 화합물들에 비하여 직선에서 벗어나는 경향을 나타내었다. 또한, test set 화합물들에 대하여 최적의 HQSAR F-3 모델로 예측된 활성값을 Table 4에 정리하였다. Training set의 오차(Ave.=0.063)에 비해 test set의 오차(Ave.=0.233)가 큰 경향을 나타난 것으로 보아 HQSAR F-3 모델의 예측성은 비교적 낮았다.

3. HQSAR 기여도의 분석

모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대한 이들 유도체들의 살균활성에 관한 구조적인 특성을 비교 분석하기 위하여 살균활성이 가장 좋은 화합물(4: $pI_{50}=5.14$)과 살균활성이 가장 낮은 화합

물(20: $pI_{50}=3.38$)의 기여도를 Fig. 3에 나타내었다. 살균활성에 크게 기여하는 부분은 녹색으로 그리고 약간 기여하는 부분은 노란색, 기여하지 않은 부분은 붉은색으로 또한, 중간수준의 활성을 나타내는 부분은 검은색으로 각각 나타내었다. 살균활성이 가장 높은 화합물(4)을 살펴보면 *N*-phenyl 부분과 *R*₁-치환기가 치환된 *S*-phenyl 고리상 일부분에 녹색과 노란색을 나타내는 부분이 살균활성에 기여한다. 높은 살균활성을 나타내는 $Obs.pI_{50}>0.472$ 이상의 고활성균 화합물(1,

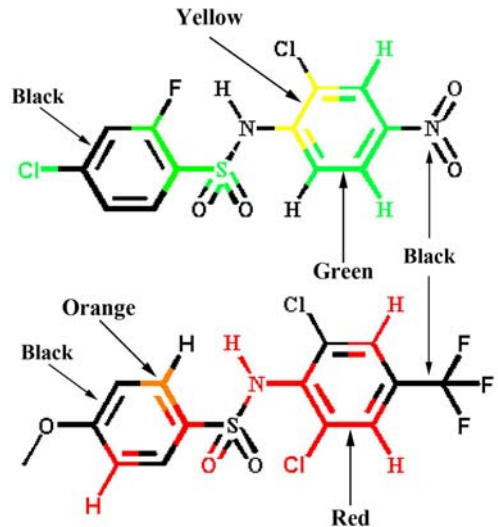


Fig. 3. Atomic contributions to the fungicidal activities (*Obs.pI₅₀*) of *N*-phenylbenzenesulfonamide derivatives(Up: 4: $Pred.pI_{50}=5.20$ & Down: 20: $Pred.pI_{50}=3.55$): Red color denotes the least contribution to the fungicidal activity while green color signifies greatest contribution and black color signifies average contribution. And yellow denotes moderates contribution to the fungicidal activity.

2, 4, 7, 및 8)에서 R₁-치환기가 전자 밀게(2: methoxy 및 7: m-dimethyl)일 경우에는 N-phenyl 고리상 R₄=nitro기가 살균활성에 기여하는 경향을 나타내었으나 반대로 R₁-치환기가 전자끌게(4: 2-fluoro-4-chloro)일 경우에는 N-phenyl 고리상 R₄=nitro기가 살균활성에 기여하지 않는 경향을 나타내었다.

특히, 살균활성이 가장 높은 화합물(4)에서 R₁-치환기로서 2-fluoro-4-chlorophenyl 기가 치환되었을 경우에는 제조활성 'Fujita(2002)'에서 뿐만 아니라, 살균활성에서도 활성을 유발하는 중요한 구조적인 특성이라고 판단된다. 한편, 살균활성이 낮은 화합물(20)에서는 N-phenyl 고리 대부분과 S-phenyl 고리 일부분에 붉은색과 주황색이 나타나는 것으로 보아 이 부분이 살균활성에 기여하지 않다는 사실을 잘 설명하고 있다. 모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대한 이들 유도체들의 살균활성에 관한 CoMFA 및 CoMSIA 분석에 의하면 'Sung 등(2007b)', R₄-치환기의 친수성과 수소-결합 받게성이 살균활성에 기여함을 설명한 바 있다.

다음 연구로는 N-phenylbenzenesulfonamide(1~30) 유도체들의 살균활성에 관련한 기여도가 어떤 설명인자에 근거하는지를 구체적으로 이해하기 위하여 분자내 치환기(R₁-R₅)들의 물리-화학적 설명인자를 2D-QSAR 모델에 적용하여 검토하고자 한다.

참고문헌

1. Akamatsu, M. 2002. Current state and perspectives of 3D-QSAR. *Curr. Topics Med. Chem.*, 2: 1381-1394.
2. Andrea, T.A., S.P. Artz, T.B. Ray, and R.J. Pasteris. 2000. Rational Approaches to Structure, Activity, and Ecotoxicology of Agrochemicals: Structure-Activity Relationships of Sulfonylurea Herbicides (Draber, W. and Fujita, T. Eds.), Ch. 15: 373-395. CRC Press, London.
3. Bouissane, L., S. El Kazzouli, S. Leonce, B. Pfeiffer, E.M. Rakib, M. Khouili, and G. Guillaumet. 2006. Synthesis and biological evaluation of N-(7-indazolyl)benzene-sulfonamide derivatives as potent cell cycle inhibitors. *Bioorg & Med Chem.*, 14: 1078-1088.
4. El-Sharief, A.M.Sh., and S.Y. Al-Raqa. 2007. New Types of Mono and Bis Sulfonamides, Tosylamino Acids and Thiosulfonic Ester Derived from Xanthotoxin, Bergapten and Visnagin with Biological Interest. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon.*, 182: 1557-1580.
5. Fujita, T. 2002. Similarities in bioanalogues structural transformation patterns, Ch. 15. (Ed. Baker, D. R. and N. K. Umetsu), In *Agrochemical discovery, insect, weed, and fungal control ACS Symposium series No. 774.*, American Chemical Society, Washington, DC.
6. Heritage, T.W., and Lewis, D.R. 1999. Molecular hologram QSAR. Ch. 4., In *Rational drug design: Novel Methodology and Practical Applications* (ed. Parrill, A. L. and M. R. Reddy), ACS Symposium Series 719, ACS. Washington, DC.
7. Kang, J.G., J.H. Hur, S.J. Choi, G.J. Chio, K.Y. Cho, L.N. Ten, K.H. Park, and K.Y. Kang. 2002. Antifungal activities of N-arylbenzenesulfonamides against phytopathogens and control efficacy on wheat leaf rust and cabbage club root diseases. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66: 2677-1682.
8. Kim, K.K., J.G. Kang, S.S. Moon, and K.Y. Kang. 2000. Isolation and identification of antifungal N-butylbenzenesulfonamide. *J. Antibiotics.*, 53 : 131-136.
9. Scozzafava, A., T. Owa, A. Mastrolorenzo, and

- C.T. Supuran, 2003. Anticancer and antiviral sulfonamides. *Curr. Med. Chem.*, 10: 925-953.
10. Sung, N.D., Y.J. Kim, H.S. Chang, and D.H. Kim. 1995. Herbicidal activity and persistency in aqueous solution of ortho disubstituted benzenesulfonamide derivatives, *Agri. Chem. & Biotech.*, 38: 570-576.
11. Sung, N.D., M.G. Soung, K.Y. Kang, and Y.G. Cho. 2007a. 3D-QSAR analysis the fungicidal activity with N-phenylbenzenesulfonamide analogues against phytophthora blight (*Phytophthora capsici*) and prediction of higher active compounds. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 50(3): 192-197.
12. Sung, N.D., M.G. Soung, T.Y. Hwang, and K.Y. Kang. 2008. 3D-QSARs Analysis on the Fungicidal Activity with N-phenylbenzenesulfonamide Analogues against Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum*) J. *Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 51(1): 38-43.
13. Sung, N.D., S.C. Jang, and K.Y. Kang. 2007b. CoMFA and CoMSIA analysis on the fungicidal activity against Damping-off (*Pythium ultimum*) with N-phenyl-benzenesulfonamide Analogues. *Kor. J. Pesticide Sci.*, 11: 8-17.
14. Tomlin, C.D.S. 2006. In *The Pesticide Manual* (14th ed.), British Crop Production Council (BCPC) Publication, Hampshire, UK.
15. Tripos, Sybyl. 2001. *Molecular modeling and QSAR software on CD-Rom* (Ver. 8.0), Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303 St. Louis, MO. 63144-2913, U.S.A.