

1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea 유도체의 제초활성과 분자 유사성

성민규 · 박관용 · 송중환¹ · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹한국화학연구원 신약연구단

Herbicidal Activity and Molecular Similarity of 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea Derivatives

Min-Gyu Soung, Kwan-Yong Park, Jong-Hwan Song¹ and Nack-Do Sung*

Division of Applied Biologies and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-784, Korea

¹Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusong, Daejeon 305-606, Korea

Received August 4, 2008; Accepted August 29, 2008

In the search for third generation herbicidal cyclic imide derivatives, the average values of herbicidal activity (PI_{50}) *in vivo* (pre-emergence) of 40 new peroxidizing herbicides, 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)thiourea derivatives (1-40) against rice plant (*Oryza sativa*) and barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) were studied. The molecular similarity between protoporphyrinogen IX (protogen) as the substrate of protox enzyme and Urea derivatives (1-40) was discussed quantitatively. The diallyl (20) and 3-nitro substituent (33) showed the selective herbicidal activity against barnyard grass. Allyl substituent (8) and their molecular similarity indice ($S=0.81$) showed the highest levels of herbicidal activity ($PI_{50}=4.71$). Also, similarity indices (S) and superimposed volume (C) of protogen and aryl-substituents (21-40) showed good correlation.

Key words: 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea derivatives, average herbicidal activities (PI_{50}), molecular similarity indice

서 론

1963년에 cyclic imides계 제초성 화합물로 oxadiazon이 처음으로 알려진 이후로 지금에 이르기 까지 수많은 cyclic imides계 유도체들이 개발되었으며 그들의 제초성 작용기작이 protoporphyrinogen oxidase(protox)를 저해함으로써 발현된다는 사실이 연구되었다.¹⁾ 새로운 cyclic imides계의 peroxidizing 제초성 물질을 탐색하기 위한 시도의 일환으로 peroxidizing 제초제들과 protox(EC. 1.3.3.4) 효소의 기질 분자인 protoporphyrinogen IX(protogen)와 3차원적인 분자 구조상의 유사성에 관련한 연구가 검토된 바 있다.^{2,3)} 또한, protox 저해제로 이미 알려진 diphenyl ether계 화합물을 위시하여 다양한 cyclic imide계 제초제들과 protogen과의 유사성에 대한 연구도 보고되었다.⁴⁾

근래, 저자들은 제초성 N-치환 phenyl-3,4-dimethylmaleimide 유도체의 정량적인 구조-활성상관 관계(QSAR)와 분자 유사성⁵⁾

그리고 다양한 steroid계 유도체들과 돼지의 pheromon인 5 α -androst-16-en-3-one 분자의 리간드에 기초한 분자 유사성에 관하여 보고한 바 있었다.⁶⁾ 최근에는 양자 위상학적 분자 유사성 설명인자들의 다중분석,⁷⁾ 분자 유사성 연구의 도구로서 통계적 분광학,⁸⁾ 분자 유사성에 대한 Kernel 접근,⁹⁾ 효소 저해제 착물의 X-ray 구조와 잠재 저해제들의 2차 및 3차원 유사성의 계통적인 비교연구¹⁰⁾ 및 약물 반응점의 표현개념¹¹⁾ 등에 관련한 분자 유사성이 연구되고 있다.¹²⁾

본 연구에서는 발아 초기단계(pre-emergence)에서 벼와 논피의 줄기와 뿌리에 대한 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea 유도체의 평균 제초활성(PI_{50})을 제시하고 이들 peroxidizing 제초성 화합물들과 protox 효소의 기질 분자인 protogen 분자와의 구조 유사성을 검토하였다.

재료 및 방법

부위별 평균 제초활성. Peroxidizing 제초성 화합물로 알려진 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea(이하, Urea로 약함) 유도체(Fig. 1)¹³⁾ 중, 3N 원자상 R-치환기가 변화함에

*Corresponding author
Phone: +82-42-821-6737; Fax: +82-42-825-3306
E-mail: ndsung@cnu.ac.kr

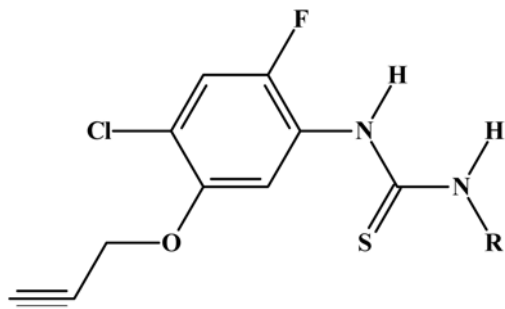


Fig. 1. General structure of 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-(R-substituted)-thiourea derivatives (R; alkyl=1-20 & aryl=21-40).

따라 발아 초기단계(pre-emergence)에서 벼(*Oryza sativa*)와 논피(*Echinochloa crusgalli*)의 줄기와 뿌리 각각에 대하여 부위별로 측정된 제초활성¹⁴⁾을 평균 제초 활성값(pl_{50})으로 정리하고 두 초종별 평균 제초 활성값의 차이값(Δ)으로부터 선택성 유무를 구분하였다. 그리고 Urea 유도체 별, 평균 제초 활성값은 유사성 지수(S)와의 상관성 계산에 활용하였다.

3차원 공간상 정렬. Prottox 효소(EC. 1.3.3.4)의 기질인 protoporphyrinogen IX (protogen)과 Urea 분자간의 유사성 지수(S)를 계산하기 위하여, Urea 유도체와 protogen의 안정한 형태는 Sybyl (Ver. 8.0) 프로그램(Tripos Inc.)을 실행하여¹⁵⁾ simulated annealing 방법으로 최적화를 실시하였으며¹⁶⁾ 그때의 전하는 Gästeiger-Hückel charge를 사용하였다. 형태가 결정된 다음에는 Urea 유도체 중, R-치환기를 제외한 나머지 분자의 구조상 공통부분(1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea)을 template로 설정하여 atom based fit 방법으로¹⁷⁾ 3차원 공간상에 정렬하고 protogen 분자와 중첩시켰다.

유사성 지수의 계산. Urea 유도체들의 유사성 지수(S)는 문헌의 방법으로 다음 식에 따라 계산하였다.⁴⁾ 이 식에서 S값은 protox 효소에 대하여 공통적으로 기질 관계에 있는 protogen 분자와 Urea 분자의 중첩된 부피(C)를 protogen 분자의 부피(T_1)와 Urea 분자의 부피(T_{II})를 곱한 값의 루트값($\sqrt{\quad}$)으로 나누어 준 값이다.

$$S = C / (T_1 \times T_{II})^{1/2}$$

여기에서 부피(C)의 단위는 \AA^3 이며 S값은 0~1 범위의 값으로 protogen 분자와 Urea 분자의 중첩된 정도를 나타낸 것으로 1에 가까운 값을 나타낼수록 구조상 이들 두 분자의 유사성이 크다는 사실을 의미한다. 그리고 위의 식으로부터 비유사성(D; dissimilarity)은 $D = 1 - S$ 로 계산되며 D값은 키랄성 계수(chirality coefficient)의 shap analog를 의미한다.

결과 및 고찰

제초활성과 선택성. 발아 초기단계의 벼와 논피에 대하여 관측된 3-alkyl-치환체(1-20)와 3-aryl-치환체(21-40)의 평균 제초활성값($Obs. pl_{50}$) 및 두 초종간 제초활성의 차이값(Δ)을 Table 1 및 2에 각각 정리하였다. 3-alkyl-치환체들의 벼에 대한 제초활성은 $pl_{50} = 3.13-4.02$ (평균: 3.40) 그리고 논피에 대하여는

Table 1. Observed average herbicidal activity (pl_{50}) of alkyl substituents against the two plants and structural similarity indices (S)

No.	Sub.(R) ^{a)}	ORY	ECH	Δ ^{b)}	C ^{c)}	S
1	Me	3.42	3.44	0.02	195.6	0.64
2	Et	3.69	3.70	0.01	212.9	0.67
3	n-Pr	3.57	3.65	-0.08	228.1	0.69
4	n-Bu	3.51	3.32	0.19	243.7	0.71
5	n-Pent	3.36	3.28	0.35	261.2	0.74
6	n-Hex	3.73	3.20	0.53	277.4	0.76
7	n-Oct	3.59	3.34	0.25	298.4	0.78
8 ^{d)}	Allyl	3.96	4.71	-0.75	252.9	0.81
9	Iso-Pr	3.69	4.22	-0.53	256.4	0.78
10	Cy-Pr	3.58	3.73	-0.15	222.7	0.69
11	Cy-Bu	3.13	3.98	-0.85	236.4	0.70
12	Cy-Pen	3.55	3.85	-0.30	250.1	0.72
13	Cy-Hex	4.02	3.55	0.47	267.7	0.75
14	Cy-Hep	3.63	3.56	0.07	282.6	0.77
15	Cy-Oct	3.48	3.66	-0.18	301.4	0.79
16	Di-Et	3.52	4.00	-0.48	243.7	0.71
17	Diiso-Pr	3.43	4.08	-0.65	278.3	0.76
18	Di-n-Pr	3.60	3.23	0.37	279.3	0.76
19	Di-n-Bu	3.55	3.18	0.37	311.9	0.80
20	Diallyl	3.43	4.39	-0.96	264.1	0.74

Volume of protogen, 472.3 (\AA^3), ORY; rice plant (*Oryza sativa*), ECH; barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), ^{a)}alkyl substituents, ^{b)}different of herbicidal activity between rice plant and barnyard grass., ^{c)}superimposed volume (\AA^3) between Urea compounds (1-20) and protogen., ^{d)}the compound that has the highest S value.

$pl_{50} = 3.18-4.71$ (평균: 3.70) 범위이었다. 두 초종간 제초활성의 차이값으로부터 논피에 대하여 선택적으로 비교적 강한 제초활성을 나타낸 alkyl-치환체로는 allyl(8; $\Delta = -0.75$), cyclobutyl(11; $\Delta = -0.85$), diisopropyl(17; $\Delta = -0.65$) 및 diallyl-치환체(20; $\Delta = -0.96$) 등 이었다. 또한, 3-aryl-치환체들의 벼에 대한 제초활성은 $pl_{50} = 2.72-3.89$ (평균: 3.58) 그리고 논피에 대하여는 $pl_{50} = 2.57-4.00$ (평균: 3.64) 범위이었다.

두 초종간 제초활성의 차이로부터 논피에 대하여 선택적으로 비교적 강한 제초활성을 나타낸 aryl-치환체로는 3-nitro(33; $\Delta = -1.00$) 및 3,5-dichloro 치환체(38; $\Delta = -0.73$) 등이었으며 화합물 20 및 33이 가장 두드러지게 큰 제초활성을 나타내었다. 대체로 3-alkyl-치환체와 aryl-치환체가 비슷한 크기의 제초활성을 나타내는 경향이였다. 벼에 대하여 대조물질로 사용한 S-275 (IUPAC: 3-chloro-2-[4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl]-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole)은 Urea 유도체보다 큰 약해를 보였으며 특히, 논피에 대하여 allyl-치환체(8; $pl_{50} = 4.71$)는 S-275 ($pl_{50} = 4.47$)보다 다소 높은 제초활성을 나타내었다.

분자 모양과 유사성. 3-alkyl-치환체(1-20)와 3-aryl-치환체(21-40)의 유사성 지수(S) 및 protogen과 Urea 유도체 사이의 중첩된 부피(C)를 Table 1 및 2에 각각 정리하였다. 먼저, Urea 유도체와 protogen 분자간 구조상 유사성을 알아보기 위하여 Fig. 2에는 논피에 대하여 평균 제초활성이 가장 높았던 allyl-치환체(8; $pl_{50} = 4.71$)와 protogen의 구조를 제시하였다.²⁾ Protogen의 부피는 $472.3(\text{\AA}^3)$ 이고 길이($L = 12.56\text{\AA}$)는 allyl-치환체(8)의 길이

Table 2. Observed average herbicidal activity (pI_{50}) of aryl substituents against the two plants and structural similarity indices (S)

No.	Sub.(R) ^{a)}	ORY	ECH	Δ^b	C ^{c)}	S
21	H	3.31	3.33	-0.02	241.1	0.70
22	4-Me	3.33	3.70	-0.37	262.5	0.74
23	4-Cl	3.77	3.22	0.55	257.3	0.74
24	4-F	3.89	4.00	-0.14	245.4	0.71
25	4-MeO	3.39	3.56	-0.17	268.4	0.75
26	4-Br	3.71	3.74	-0.03	260.3	0.74
27	4-OH	3.07	3.38	-0.31	251.5	0.72
28	4-NO ₂	3.21	3.06	0.15	261.6	0.74
29	3-Cl	3.24	3.33	-0.09	256.1	0.73
30	3-Br	3.14	3.25	-0.11	261.3	0.74
31	3-F	3.37	2.91	0.46	247.0	0.72
32	3-OH	3.05	3.50	-0.45	251.4	0.72
33	3-NO ₂	2.72	3.72	-1.00	263.2	0.74
34	3-MeO	3.57	3.62	-0.05	265.5	0.74
35	3-Me	2.91	2.57	0.34	260.6	0.74
36	3-Cl, 4-F	3.94	3.56	0.38	258.4	0.73
37	3,5-(F) ₂	3.50	3.35	0.15	249.7	0.72
38	3,5-(Cl) ₂	3.05	3.78	-0.73	268.8	0.75
39	3,5-(Me) ₂	3.28	3.12	0.16	276.2	0.76
40	3,4-(F) ₂	3.62	3.77	-0.15	249.7	0.72
	S-275 ^{d)}	4.72	4.47	0.25	-	-

ORY; rice plant (*Oryza sativa*), ECH; barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), ^{a)}Substituents on the phenyl ring., ^{b)}different of herbicidal activity between rice plant and barnyard grass., ^{c)}superimposed volume (\AA^3) between Urea compounds (21-40) and protogen., ^{d)}standard comparing compound, 3-chloro-2-[4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl]-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole.

($L=12.11\text{\AA}$)와 거의 같았으며 치환기의 길이(protogen: 4.24\AA 및 8: 4.59\AA)도 유사하였다. 그러므로 이들과 관련된 구조적인 요소들이 두 초종들에 대한 제조활성에 기여 할 것으로 예상된다. Fig. 3에는 protogen 분자의 구조와 가장 높은 제조활성을 나타낸 allyl-치환체(8)를 중첩시켜 두 화합물 사이의 구조적 유사성을 검토하였다. 위에서 언급한 바와 같이, 두 분자의 길이는 유사하였으나 입체적인 중첩 측면에서는 allyl-치환체(8)가 protogen 분자의 원형 구조상에 부분적인 중첩을 나타내었다. 이로부터 예상되는 바와 같이 Table 1 및 2에는 alkyl-치환체보다 부피가 큰 aryl-치환체가 큰 S 값들을 나타내는 경향을 보였다.

Urea 유도체중에서 제일 큰 유사성 지수($S=0.81$)를 나타낸 allyl-치환체(8)의 S 값으로부터 중첩도가 81%이고 중첩되지 않는 정도인 비유사성 지수($D=0.19$)가 19%이었다. 그러므로 allyl-치환체는 가장 큰 평균 제조활성 값(pI_{50})과 S값을 나타내어 이들 두 값들이 비슷한 경향을 나타내므로서 서로 연관성이 예상되었다. 그러나 회귀분석을 통하여 평균 제조활성값(pI_{50})과 S값 사이의 상관성을 검토한 결과, 상관성은 매우 낮은 경향을 나타내었다. 이 같은 현상은 평균 제조활성 값이 protox 효소와 직접적인 반응의 결과가 아니라, 이 효소를 포함하고 있는 다양하고 복잡성으로 점철된 생체계와의 반응이기 때문으로⁹⁾ 예측되었다. 한편, Urea 분자와 protogen 분자간의 중첩된 부피(C)와 Urea 분자별 S값 사이의 관계를 검토한 결과, Urea 유도

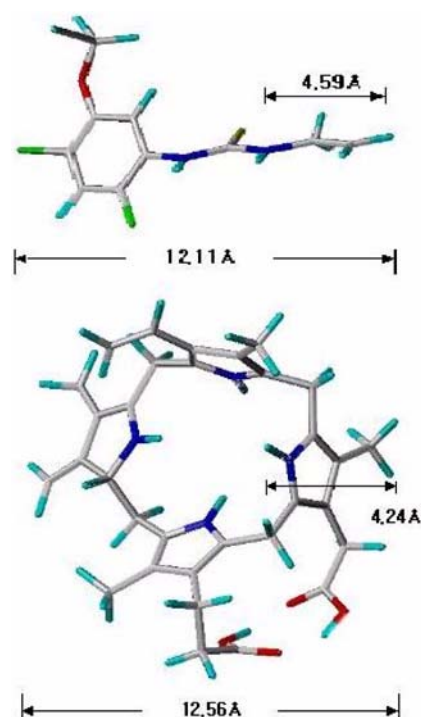


Fig. 2. Structures of 1-allyl-3-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)thiourea (8) as inhibitor for protox (Above) and protogen as substrate of protox (Down).



Fig. 3. Superimposed structures between protogen and allyl-substituent (Red; 8).

체(1-40; $C=569.679(\pm 47.917)S-161.121(\pm 35.293)$, $n=40$, $F=141.34$ 및 $r=0.888$)에서 alkyl-치환체(1-20; $C=573.581(\pm 71.7)S-165.637(\pm 53.087)$, $n=20$, $F=64.00$ 및 $r=0.883$)보다 aryl-치환체(21-40; $C=581.796(\pm 31.531)S-168.366(\pm 23.101)$, $n=20$, $F=340.45$ 및 $r=0.975$)의 경우에 좋은 상관성을 나타내었다. 한 예로, Fig. 4에는 중첩된 부피(C)와 유사성 지수(S) 사이의 직선관계가 제일 양호한 aryl-치환체 경우의 비례관계($C=581.796(\pm 31.531)S-168.366(\pm 23.101)$, $n=20$, $F=340.45$ 및 $r=0.975$)를 나타내었다. 이와같이 protox의 기질 분자인 protogen과 Urea 유도체들 사이의 분자구조 유사성에 기초하여 제조성이 큰 화합물을 탐색하고 개발할 수 있을것으로 기대된다.

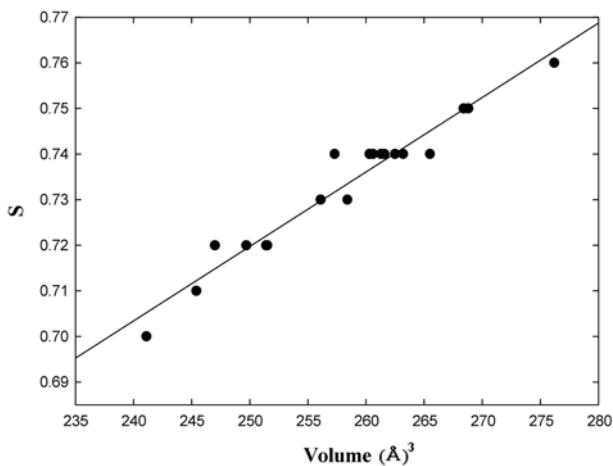


Fig. 4. Relationship between superimposed volume (C ; \AA^3) and similarity indices (S) in aryl substituents (21-40)., $C=581.796 (\pm 31.531)S-168.366 (\pm 23.101)$, $n=20$, $F=340.45$ & $r=0.975$.

초 록

제3세대 제초성 cyclic imide 유도체를 탐색하기 위하여 peroxidizing 제초제로써 40개의 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea 유도체(1-40) 중, 3-R-치환체의 발아 전 벼(*Oryza sativa*)와 논피(*Echinochloa crusgalli*)에 대한 평균 제초활성 값들을 제시하였다. 그리고 Urea 유도체(1-40)와 protox 효소의 기질분자인 protogen 사이의 분자구조 유사성을 검토하였다. 논피에 대하여 선택성을 나타내는 화합물은 diallyl-치환체(20)와 3-nitro-치환체(33)이었으며 allyl-치환체(8)가 가장 큰 제초활성($pl_{50}=4.71$)과 유사성 지수($S=0.81$) 값을 나타내었다. 그리고 aryl-치환체(21-40)와 protogen 사이의 중첩된 부피(C)와 S 값 사이에 상관성이 좋았다.

Key words: 평균 제초활성(pl_{50}), 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3-thiourea 유도체, 분자 유사성

감사의 글

본 연구는 한국과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 육성사업의 지원으로(No. R11-2002-100-03005) 수행되었음.

참고문헌

- Fujita, T. and Nakayama, A. (1999) In *Peroxidizing herbicides* (Boger, P. and Wakabayashi, K. eds.), *Structure-activity relationship and molecular design of peroxidizing herbicides which cyclic imide structures and their relatives*. pp. 91-139. Springer, Heidelberg.
- Uraguchi, R., Sato, Y., Nakayama, A., Sukekaya, M., Iwataki, I., Boger, P. and Wakabayashi, K. (1997) Molecular Shape Similarity of Cyclic Imides and Protoporphyrinogen IX. *J. Pesticide Sci.* **22**, 314-320.
- Nandihalli, U. B., Duke, M. Y. and Duke, S. O. (1992) Quantitative structure-activity relationships of protoporphyrinogen oxidase-inhibiting diphenyl ether herbicides, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **43**, 193-211.
- Meyer, A. Y. and Richards, W. G. (1991) Similarity of molecular shape. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **5**, 427-439.
- Sung, N. D., Ock, H. S., Chung, H. J. and Song, J. H. (2003) Quantitative structure-activity relationships and molecular shape similarity of the herbicidal N-substituted phenyl-3,4-dimethyl-maleimide derivatives. *Korean J. Pesticide Sci.* **7**, 100-107.
- Sung, N. D., Kim, C. H., Jin, D. L. and Park, C. S. (2004) The search of pig pheromonal odorants for biostimulation control system technologies: I. Ligand based molecular shape similarity of 5α -androst-16-en-3-one analogues and their physico-chemical parameters. *Reprod. Dev. Biol.* **28**, 45-52.
- Esteki, M., Henmateenejad, B., Khayamian, T. and Mohajeri, A. (2007) Multi-way analysis of quantum topological molecular similarity descriptors for modeling acidity constant of some phenolic compounds. *Chem. Biol. Drug Des.* **70**, 413-423.
- Bielinska-Waz, B., Nowak, W., Peplowski, L., Waz, P., Basak, S. C. and Natarajan, R. (2008) Statistical spectroscopy as a tool for the study of molecular similarity. *J. Math. Chem.*, **43**, 1560-1572.
- Rupp, M., Proschak, E. and Schneider, G. (2007) Kernel approach to molecular similarity based on iterative graph similarity. *J. Chem. Inf. Model.* **47**, 2280-2286.
- Peltason, L. and Bajorath, J. (2007) Molecular similarity analysis uncovers heterogeneous structure-activity relationships and variable activity landscapes. *Chem. Biol.* **14**, 489-497.
- Atlamazoglou, V., Thireou, T. and Eliopoulos, E. (2007) Using a pharmacophore representation concept to elucidate molecular similarity of dopamin antagonists. *J. Comput. Aided Des.* **21**, 239-249.
- Lajiness, M. S. (1996) Applications of molecular similarity/dissimilarity in drug research., In *Structure-property correlations in drug research* (Waterbeemd, Han van de ed.), Ch. 6, pp. 180-205.
- Jeon, D. J., Kim, Y. M., Park, K. Y., Kim, H. R., Song, J. H., Hwang, I. T. and Ryu, E. K. (2001) Synthesis and herbicidal activities of 2-(5-propargyloxy-phenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-2H-indazole and their related derivatives. *Korean J. Pesticide Sci.* **5**, 68-71.
- Park, K. Y., Song, J. H., Jeon, D. J., Song, M. G. and Sung N. D. (2008) Synthesis and herbicidal activity of new 1-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyl-oxyphenyl)-3-thiourea derivatives. *Korean J. Pesticide Sci.*, **12**, 103-110.
- 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.
- Marshall, G. R., Barry, C. D., Bosshard, H. E., Dammkoehler, R. A. and Dunn, D. A. (1979) In *Computer-assisted drug design. The conformational parameter in drug design; Active analog approach.* (ed. Olsen, E. C. & Christoffersen, R. E.), American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 205-226.
- Clark, M., Cramer III, R. D., Jones, D. M., Patterson, D. E. and Simeroth, P. E. (1990) Comparative molecular field analysis (CoMFA). 2. Toward its use with 3D-structural databases. *Tetrahedron Comput. Methodol.* **3**, 47-59.