

# Bovine Odorant Binding Protein에 대한 Tetrahydropyrene 및 Tetrahydrofuran 유도체들의 결합 친화력 상수에 관한 2D-QSAR 분석과 고효성 분자의 예측

박창식 · 성낙도<sup>1,\*</sup>

충남대학교 형질전환복제돼지연구센터, <sup>1</sup>충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부

## 2D-QSAR Analyses on the Binding Affinity Constants of Tetrahydropyrene and Tetrahydrofuran Analogues against Bovine Odorant Binding Protein and Predicted of High Active Molecules

Chang-Sik Park and Nack-Do Sung<sup>1,\*</sup>

Research Center for Transgenic Cloned Pigs, <sup>1</sup>Department of Applied Biological Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-784, Korea

### ABSTRACT

The two dimensional quantitative structure-activity relationships (2D-QSARs) models concerning the binding affinity constants ( $p[Od.]_{50}$ ) between 2-cyclohexyltetrahydropyrene and 2-cyclohexyltetrahydrofuran analogues as substrates, and bovine odorant binding protein (bOBP) as receptor were derived by multiple regression analyses method and discussed. The statistical quality of the optimized 2D-QSAR model (5) was good ( $r=0.907$ ). From the model, the binding affinity constants ( $p[Od.]_{50}$ ) were dependent upon the optimal value ( $(TL)_{opt}=2.737$ ) of total lipole (TL) of substrate molecules. Based on these findings, the high active compounds predicted by optimized 2D-QSAR model (5) were 2-(dimethylcyclohexyl)tetrahydropyrene molecule and their isomer molecules. The binding affinity constants regarding bOBP of the tetrahydrofuryl-2-yl family compounds were dependent upon the hydrophobicity ( $\log P$ ) of whole substrate molecules. In any case of porcine odorant-binding proteins (pOBP), the constants were dependent upon the hydrophobicity ( $\pi_x=\log P_x-\log P_H$ ) of substituents (R) in substrate molecules. Also, from the optimal values of hydrophobic constant, the hydrophobicity for bOBP influenced ca. twice time bigger (bOBP>pOBP) than that for pOBP.

(Key words : bOBP, Binding affinity constant, 2-cyclohexyltetrahydropyrenes, 2-cyclohexyltetrahydrofuranes, 2D-QSAR model, pOBP)

### 서 론

페로몬은 포유동물의 소변과 땀을 위시하여 신체 분비물들에 포함되어 있는 비휘발성 냄새 물질로서(Dulac, 1997), 특수 정보에 따른 움직임을 유도하는 특징을 가진다. 이 특징을 바탕으로 특수한 정보를 전달하는 후각 신호들은 많은 종들에 있어서 암컷의 질내 분비액이나 소변에서 생산되는 것으로 추정된다(Rekwot 등, 2000).

냄새물질 결합 단백질들(OBPs)은 우리가 냄새물질(odorants)이라고 부르는 휘발성 화합물들의 특성에 의하여 정의

된 lipocalin의 하위 분류(sub-class)에 속하며 포유동물의 코 점막에서 냄새물질과 결합하는 성분이다(Pelosi, 1994; Tegoni 등, 2000). Lipocalins이란 그 크기가 크고, 대부분 척추동물들과 무척추 동물들, 식물들, 그리고 박테리아에서 발견되는 세포외 단백질로 구성된 소규모의 다양한 그룹이다(Akerstrom 등, 2000). OBPs는 포유동물에 존재하는 단백질 중 곤충에 있는 것보다 잘 용해할 수 있는 특징을 갖는다(Ikematsu 등, 2005). OBPs에 관한 연구는 광범위하게 진행되어 왔으며, 소(Ikematsu 등, 2005), 돼지(Burova 등, 1999; Dal Monte 등, 1991), 토끼(Dal Monte 등, 1991), 쥐(Briand 등, 2000; Pes 등, 1995) 그리고 최근에는 코끼리(Lazar 등,

\* 이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단(NRF)의 지원에 의하여 이루어진 것임(No. 2009-0062913).

<sup>†</sup> Corresponding author : Phone: +82-42-821-6737, E-mail: ndsung15@hanmail.net

2002)와 인간(Brind 등, 2002)을 포함하는 다양한 종에서 확인되었다.

근래, 냄새 분자들의 인식 메커니즘이 알려지게 되면서 (Buck, 2004) bovine OBPs에 관한 연구가 많이 진행되었다. Bovine OBPs는 단인자이면서 적어도 하나의 disulfide bridge(S-S)을 소유하는 다른 포유류의 OBPs와 달리 cysteines이 결여된 이량체 구조를 가지며(Pelosi, 1994; Ramoni 등, 2008), 냄새 분자가 결합하는 장소의 위치와 화학적인 특성으로 부터 확인되는 bovine OBPs의 입체구조와 향기의 인식 메커니즘에 관한 연구 등이 진행되고 있다(Bianchet 등, 1996). 소의 페로몬에 관한 연구의 경우에는 호르몬의 사용과 생물학적 제제들의 응용을 통하여 번식을 통제하고 조절하는 연구(Peters 등, 1995), 포유류의 페로몬에 대한 일반적인 근원인 소변과 분비액에 관한 연구(Archunanm, 2003) 그리고 황소가 발정과 비발정 여부를 냄새로 구분하고 페로몬 냄새를 발견할 수 있는지에 관한 연구(Sankar 등, 2004) 등이 진행되어 왔으며, 최근에 발정 탐지는 소의 분비물로 추정되는 페로몬의 증명에 관한 연구(Sankar 등, 2008) 등이 진행되었다. 또한, 소의 번식에서 페로몬의 역할은 양, 염소, 그리고 돼지와 같은 다른 종들과 달리 아직 명확하게 밝혀지지 않았으며(Rekwot 등, 2000), 소 분비물에서 발정 특이성 화합물로 추정되는 페로몬성 화합물로는 acetic acid, 1-iodoundecane 및 propionic acid가 거론되고 있다(Sankar 등, 2008).

본 연구에서는 bOBP 단백질 분자에 대하여 측정된 돼지 발정 유도 물질로도 알려진 tetrahydrofuryl-2-yl계 화합물들(Soung 등, 2008; Park 등, 2009)의 결합 친화력 상수(p[Od.]<sub>50</sub>)에 기초하여(Dal Monte 등, 1993) tetrahydrofuryl-2-yl계 기질 유도체(1~9)의 치환기(R) 변화에 따른 2차원적인 구조-활성관계(2D-QSAR)로부터 높은 활성 화합물을 예측하였다.

재료 및 방법

설명 인자들의 계산

기질 분자로서 2-cyclohexyltetrahydropyran (A) 및 2-cyclohexyltetrahydrofuran (B) 유도체(1~9)들(Fig. 1)의 치환기(R) 변화에 따른 bOBP 사이의 결합 친화력 상수(p[Od.]<sub>50</sub>) 값은 문헌값을 활용하였다(Dal Monte 등, 1993). 분자와 치환기의 설명인자인 물리-화학 파라미터들은 TSAR program (Ver. 3.3)을 이용하여 계산하였다(TSAR, 2000). 2D-QSAR 모델의 유도에 사용된 분자나 또는 치환기(R)의 설명인자로는 분자 표면적(MSA Å<sup>2</sup>), 소수성 상수(log P), 쌍극자 능률값(Debye), 입체 파라미터인 치환기(R)의 길이(L<sub>1</sub>), 몰라 굴절성

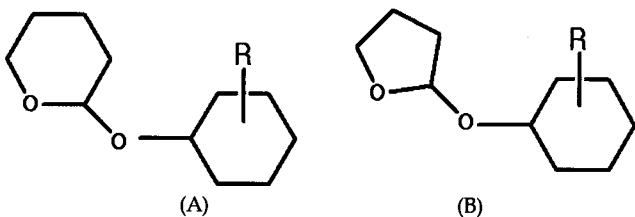


Fig. 1. General structures of 2-cyclohexyltetrahydropyran (A) and 2-cyclohexyltetrahydrofuran (B) as odorants (A: 1~3 & B: 4~9).

상수(MR; Cm<sup>3</sup>/mol) 이외에 분자량(Ms) 및 전체 소수성 (TL) 상수 등이었다.

2D-QSAR 모델의 유도

기질 유도체(A 및 B) 및 치환기(R)의 설명인자로서 물리-화학적 파라미터와 관측된 결합 친화력 상수(p[Od.]<sub>50</sub>)로부터 다중 회귀분석을 실시하여 구조-활성상관(SAR) 모델을 유도하기 위하여 TSAR 프로그램 (Ver. 3.3)과 SAS 프로그램(Ver. 9.1)을 각각 사용하였다. 통계값 중, r은 상관계수, r<sup>2</sup>은 유의성, q<sup>2</sup>은 예측성, F는 상관율이며, s는 표준편차를 나타낸 것이다.

결 과

결합 친화력 상수와 설명인자

bOBP와 기질분자(A 및 B) 사이에 관측된 결합친화력상수(Obs.p[Od.]<sub>50</sub>), 최적화된 2D-QSAR 모델(식 (5))에 의하여 예측된 결합친화력상수(Pred.p[Od.]<sub>50</sub>) 그리고 이들 두 값의 차이값(Dev.)을 위시하여 2D-QSAR 모델의 유도에 사용된 설명인자로서 기질분자의 분자량(Ms) 및 분자의 전체 소수성(TL) 값들을 Table 1에 각각 정리하였다. 기질 화합물 중에서 trans-3-Methyl 치환체(2: p[Od.]<sub>50</sub>=5.51)가 제일 높은 결합친화력 상수를 나타내었으며, trans-4-tert-butyl 치환체 (9: p[Od.]<sub>50</sub>=5.51)는 가장 낮은 값을 나타내었다. 또한, cis 및 trans 이성질체들의 결합친화력상수들은 서로 다른 값을 나타내었다. 그리고 관측값과 예측값의 차이값(Dev.)이 관측값의 4% 미만을 상회하는 값을 나타내므로 2D-QSAR 모델에 의한 예측성이 양호함을 확인할 수 있었다. 2D-QSAR 모델을 유도하는데 있어서 설명인자들 사이의 상관관계로부터 설명인자들이 대체로 서로 독립적인 경향을 나타내고 있어 통계적으로 적절한 모델이 유도되었다.

최적화된 2D-QSAR 모델

수용체(bOBP)와 기질분자(A 및 B) 사이의 상호작용에 따

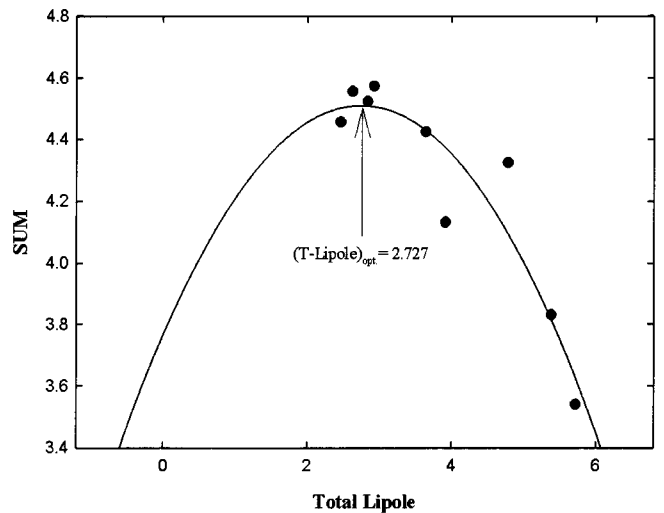


Fig. 2. Relationships between binding affinity constants (p[Od.]<sub>50</sub>) and total lipole (TL) by 2D-QSAR model. SUM=p[Od.]<sub>50</sub>-0.004811Ms.

**Table 1.** Binding affinity constants regarding bOBP of substrate molecules (A, B) and used descriptors in the optimized 2D-QSAR model (5)

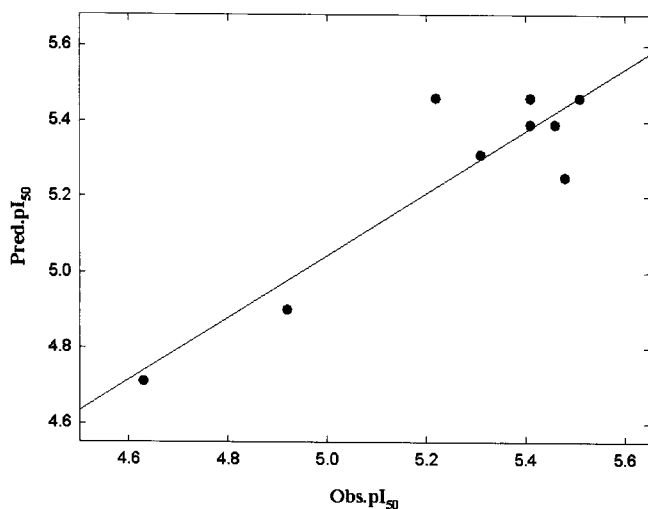
No.	Substituents (R)	Descriptors		p[Od.] <sub>50</sub>		
		Ms	(TL) <sup>2</sup>	Obs. <sup>a)</sup>	Pred. <sup>b)</sup>	Dev. <sup>c)</sup>
1	<i>cis</i> -3-methyl	198.34	6.06	5.41	5.46	-0.05
2	<i>trans</i> -3-methyl	198.34	6.90	5.51	5.46	0.05
3	<i>trans</i> -4-isopropyl	226.40	15.36	5.22	5.46	-0.24
4	1-methyl	240.43	22.90	5.48	5.25	0.23
5	<i>cis</i> -2-methyl	184.31	8.56	5.46	5.39	0.07
6	<i>trans</i> -2-methyl	184.31	8.04	5.41	5.39	0.02
7	<i>trans</i> -4-methyl	184.31	13.28	5.31	5.31	-0.00
8	<i>cis</i> -4- <i>tert</i> -butyl	226.40	28.98	4.92	4.90	0.02
9	<i>trans</i> -4- <i>tert</i> -butyl	226.40	32.76	4.63	4.91	-0.08
	Ave. <sup>d)</sup> (PRESS) <sup>d)</sup>	0.760	(0.128)			

Note : A=1~3 & B=4~9, Ms; molecular mass (amu), TL; the total lipole for whole molecules & substituents., <sup>a)</sup>observed binding affinity constant, <sup>b)</sup>predicted values by the optimized 2D-QSAR model (5), <sup>c)</sup>difference of observed (*obs.p[Od.]<sub>50</sub>*) values and predicted (*pred.p[Od.]<sub>50</sub>*) values, <sup>d)</sup>average residual of training set, <sup>e)</sup>predictive residual sum of squares of the training set.

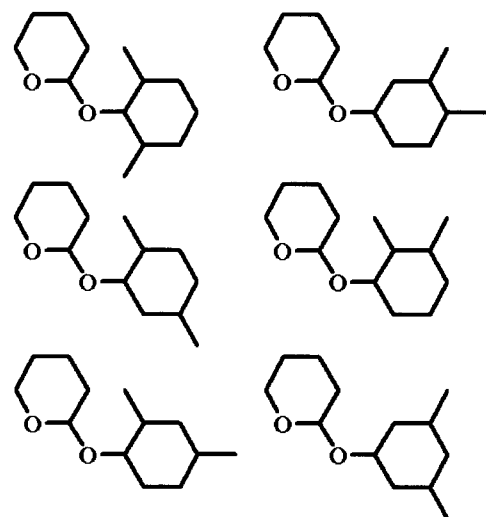
**Table 2.** Development of 2D-QSAR equations for binding affinity constants between bOBP and the tetrahydrofuryl-2-yl family compounds

Eq. No.	Intercept	(TL) <sup>2</sup>	TL	Ms	n	s	F	r <sup>2</sup>
1	4.408	-0.106	0.665	-	9	0.275	10.17	0.772
2	4.602	-0.035	-	0.006	9	0.276	10.30	0.774
3	5.159	-	-0.273	0.006	9	0.254	7.43	0.713
4 <sup>a)</sup>	3.765	-0.099	0.544	0.005	9	0.195	7.68	0.822

Notes: n; number of used compounds, s; mean square, F; fraction of explained versus unexplained variance, r; adjust correlation coefficient, <sup>a)</sup>optimized model.



**Fig. 3.** Relationships between observed binding affinity constants (*Obs.p[Od.]<sub>50</sub>*) and predicted binding affinity constants (*Pred.p[Od.]<sub>50</sub>*) by 2D-QSAR model. (For training set;  $Pred.p[Od.]_{50} = 0.823 Obs.p[Od.]_{50} + 0.927$ ,  $n=9$ ,  $s=0.123$ ,  $F=32.102$ ,  $r=0.906$  &  $q^2=0.777$ ).



**Fig. 4.** Predicted high active odorants, dimethylcyclohexyltetrahydrofuran (A) molecules and their isomers by optimized 2D-QSAR model (5).

른 결합친화력상수( $p[Od.]_{50}$ )에 미치는 분자나 치환기의 설명 인자인 물리-화학적 변수를 이해하기 위하여 Table 2에는 2D-QSAR 모델의 유도 과정을 통계값과 함께 요약하였다. 그 결과, 통계적으로 가장 양호한 모델은 식 (5)이었다. 그러므로 Fig. 2에는 최적화된 2D-QSAR 모델(식 5)에서 TL 상수와 SUM값 ( $p[Od.]_{50}-0.004811Ms$ )과의 포물선 관계를 나타내었다. 또한, Fig. 3에는 관측된 결합 친화력 상수값( $Obs.p[Od.]_{50}$ )과 2D-QSAR 모델(식 5)에 의하여 예측된 결합 친화력 상수값( $Pred.p[Od.]_{50}$ )과의 관계를 나타내었다. 이 같은 결과들에 기초하여 Fig. 4에는 높은 결합친화력 상수를 나타낼 것으로 기대되는 활성 화합물로서 10개의 dimethylcyclohexyltetrahydropyrane 분자와 그 이성질체들의 구조를 예측하여 제시하였다.

## 고 찰

### 2D-QSAR 모델의 분석

기질분자나 치환기의 설명인자(Table 1)인 물리-화학 파라미터들을 순차적으로 대입하여 유도된 Table 2중의 2D-QSAR 모델에서 식 (4)의 통계값이 가장 양호하게( $r^2=0.822$ ) 개선되었다. 그리고 다음 식 (5)는 식 (4)에 기초하여 Ms 변수를 포함하는 TL 변수의 2차식 형태로 정리한 것이다.

$$Pred.p[Od.]_{50} = -0.099(TL)^2 (\pm 0.057) + 0.544TL (\pm 0.473) + 0.005Ms (\pm 0.005) + 3.765 (\pm 1.029) \dots \dots \dots (4)$$

$$Pred.p[Od.]_{50} = -0.099(TL-2.737)^2 + 0.005Ms + 4.509, \\ (S=0.195 \quad F=53.17, \quad r^2=0.822 \quad \text{및} \quad r=0.907) \dots \dots \dots (5)$$

또한, 치환기(R)의 표면적( $MSA \text{ \AA}^2$ )과 소수성 상수( $\log P$ )를 사용하여 또 다른 식을 유도하여 통계값을 비교한 결과 ( $r=0.894$ ), 식 (5)의 상관성( $r=0.907$ )에 미치지 못하였다. 최적화된 식 (5)는 기질분자와 bOBP 사이의 결합친화력 관계를 약 82% 설명하는 2D-QSAR 모델로서 기질분자는 분자 질량(Ms)을 포함하는 분자내 소수성(TL)상수의 적정값이 ( $TL)_{opt} = 2.737$ 일 경우에 가장 높은 결합친화력을 나타낼 것으로 예상되었다. 그러므로 Fig. 3에 제시한 관측된 결합친화력상수( $Obs.p[Od.]_{50}$ )와 2D-QSAR 모델(식 (5))에 의하여 예측된 결합친화력상수( $Pred.p[Od.]_{50}$ ) 사이의 비례관계( $Pred.p[Od.]_{50} = 0.826Obs.p[Od.]_{50} - 0.576$ ,  $n=9$ ,  $s=0.123$ ,  $F=32.154$ ,  $r=0.906$  및  $q^2=0.777$ )는 이들 두 상수들 사이의 상관성이 매우 양호함을 잘 설명하고 있다.

### 고활성 분자의 조건

최적화된 2D-QSAR 모델(식 5)에서 기질분자는 분자 질량(Ms)을 포함하는 분자 전체에 대한 소수성(TL)상수의 적정값이 ( $TL)_{opt} = 2.737$ 일 경우에 가장 높은 결합친화력을 나타낼 것으로 예상되었다. 그러므로 치환기(R)로서 methyl-기가 cyclohexyl 고리상에 도입되었을 경우에는 위치에 상관없이 methylcyclohexyl-기가  $TL=0.342$  정도의 값을 갖기 때문에, A 유도체에 dimethyl-기가 결합시에는  $TL=2.684$ 로 TL 상수의 적정값, ( $TL)_{opt}=2.737$ 에 가장 근접하여 제일 높은 결합친화력을 나타낼 것으로 예상되었다. 그리고 B 유도체는 비치환체( $R=H$ ) 자체의 값이  $TL=2.884$ 로 적정값에 근접하므로 치환기가 결합하지 않은 비치환체( $R=H$ )가 제일 높은 결합친화

력을 나타낼 것으로 예측되었다. 또한, 식 (5)에서 임계상수인 Ms의 계수가 양(+)의 값이므로 분자량이 큰 화합물일수록 높은 결합친화력상수를 나타낼 것으로 예측되지만 계수의 크기가 작기 때문에 그 영향이 클 것으로 예상되지 않는다.

이상과 같은 검토 결과로부터, 최적화된 2D-QSAR 모델(식 5)중 TL 상수의 적정값에 근거하여 A 화합물은 치환기(R)로서 dimethyl-치환체 그리고 B 화합물로서는 비치환체( $R=H$ )가 기질분자로서 bOBP와의 상호작용에 있어서 유의할 만한 결합친화력상수( $Obs.p[Od.]_{50}$ )를 나타낼 것이다. 따라서 Fig. 4에는 고활성이 예측되는 화합물로서 dimethylcyclohexyltetrahydropyrane 분자와 그 이성질체들의 구조식을 제시하였다. 그러나 기질-수용체와의 반응은 위상학적인 고도의 비대칭적 선택성을 나타내므로 기질 분자내의 입체중심(chiral) 탄소원자( $sp^3$ )의 절대 구조(R 및 S)에 관련한 검토가 정량적으로 이루어져야 할 것이다.

### 수용체에 따른 기질분자의 반응성

Tetrahydrofuryl-2-yl계 기질 유도체의 두 수용체, pOBP 및 bOBP 사이의 결합 친화력상수에 대한 2D-QSAR 모델을 비교하였다. 즉, pOBP에 대한 2D-QSAR 모델은 기질 분자내 치환기(R)의 소수성(SL) 상수( $\pi x = \log P_x - \log P_H$ )에 대한 적정값이 ( $SL)_{opt} = 1.418$ 이었을 경우에 가장 높은 결합친화력상수를 나타내었다(Park 등, 2007). 그러나 앞서 검토된 바와 같이, bOBP에는 기질분자 전체에 대한 소수성(TL) 상수( $\log P$ )의 적정값이 ( $TL)_{opt} = 2.737$ 일 때 가장 높은 결합친화력을 나타낼 것으로 예상되었다. 그러므로 돼지와 소의 OBP에 대한 tetrahydrofuryl-2-yl계 기질 유도체의 결합 친화력에 대한 차이점은 다음과 같이 설명된다. 즉, 공통적으로 결합친화력상수( $Obs.p[Od.]_{50}$ )는 소수성적인 요소( $\log P$  또는  $\pi$ )에 의존적이었다. 그러나 돼지(pOBP)의 경우에는 치환기(R)의 소수성( $\pi$ ) 그리고 소(bOBP)의 경우에는 기질분자 전체의 소수성( $\log P$ )에 각각 의존적인 상이한 특이성을 나타내었다. 따라서 소수성 상수의 적정값으로부터 bOBP에 대한 소수성이 pOBP에 대한 소수성보다 약 2배 가량 크게(bOBP > pOBP) 영향을 미치고 있음을 알았다. 이 같은 결과는 bOBP의 반응점내 소수성적인 환경이 pOBP의 그것보다 크기 때문이며, tetrahydrofuryl-2-yl계 기질 화합물들이 각 수용체(pOBP 및 bOBP) 내의 반응점에 대한 입체효과, 정전기적인 효과 및 소수성적인 상호작용이 서로 다르게 영향을 미치는 결과로 설명된다(Schneider 등, 2007).

## 인용문헌

1. Akerstrom B, Flower DR, Salier JP (2000): Lipocalins: unity in diversity. *Biochim Biophys Acta* 1482:1-8.
2. Archunanm G (2003): Pheromones: chemical signals for reproductive behaviour. In: *Proceedings of 28th Conference of the Ethological Society of India*, pp. 38-42.
3. Bianchet MA, Bains G, Pelosi P, Pevsner J, Snyder SH, Monaco HL, Amzel LM (1996): The three-dimensional structure of bovine odorant binding protein and its mechanism of odor recognition. *Nat Struct Biol* 3:934-939.
4. Briand L, Nespoulous C, Perez V, Remy JJ, Huet JC,

- Pernollet JC (2000): Ligand-binding properties and structural characterization of a novel rat odorant-binding protein variant. *Eur J Biochem* 267:3079-3089.
5. Brind L, Eloti C, Nespoulous C, Bezirard V, Huet JC, Henry C, Blon F, Trotier D, Pernollet JC (2002): Evidence of an odorant-binding protein in the human olfactory mucus: location, structural characterization, and odorant-binding properties. *Biochem* 41:7241-252.
  6. Burova TV, Choiset Y, Jankowski CK, Haertle T (1999): Conformational stability and binding properties of porcine odorant-binding protein. *Biochem* 38: 15043-15051.
  7. Buck LB (2004): The search for odorant receptors. *commentary. Cell* 116: s117-s119.
  8. Dal Monte M, Andreini I, Revoltella R, Pelosi P (1991): Purification and characterization of two odorant-binding proteins from nasal tissue of rabbit and pig. *Comp Biochem Physiol* 99B:445-451.
  9. Dal Monte M, Centrini M, Anselmi C, Pelosi P (1993): Binding of selected odorants to bovine and porcine odorant-binding proteins. *Chem Senses* 18:713-721.
  10. Dulac C (1997): Molecular biology of pheromone perception in mammals, *cell & development. Biol* 8:197-205.
  11. Ikematsu M, Takaoka D, Yasuda M (2005): Odorant binding initially occurring at the central pocket in bovine odorant-binding protein. *BBRC* 333:1227-1233.
  12. Lazar J, Greenwood DR, Rasmussen LEL, Prestwich GD (2002): Molecular and functional characterization of an odorant-binding protein of the Asian elephant, *Elephas maximus*: implications for the role of lipocalins in mammalian olfaction. *Biochem* 41: 11786-11794.
  13. Park CS, Choi YS, Sung ND (2007): The search of pig pheromonal odorants for biostimulation control system technologies: A 2D-QSAR model for binding affinity between 2-cyclohexyloxytetrahydrofuran analogues and porcine odorant binding protein. *Reprod Dev Biol* 31:15-20.
  14. Park CS, Song SO, Lim JS, Soung MG, Sung ND (2009): The search of pig pheromonal odorants for biostimulation control system technologies: Synthesis of N<sup>1</sup>-allyl-N<sup>2</sup>-(tetrahydrofuran-2-ylmethyl)oxalamide molecule and induction effect of pig estrus. *Reprod Dev Biol* 33:1-5.
  15. Pelosi P (1994): Odorant binding proteins. *Crit Rev Biochem Molec Biol* 29: 199-228.
  16. Pes D, Pelosi P (1995): Odorant-binding proteins of the mouse. *Comp Biochem Physiol* 112B:471-479.
  17. Peters AR, Dall PH (1995): The ovarian cycle. In: Peters AR, Ball PJH. (Eds.), *Reproduction in Cattle*. Blackwell Sci UK. pp.21-46.
  18. Ramoni R, Spinelli S, Grolli S, Conti V, Merli E, Cambillau C, Tegoni M (2008): Deswapping bovine odorant binding protein. *Biochim Biophys Acta* 1784: 651-657.
  19. Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO, Sekoni VO (2000): The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim Sci* 65:157-170.
  20. Sankar R, Archunan G (2004): Flehmen response in bull: role of vaginal mucus and other body fluids of bovine with special reference to estrus. *Processes* 67: 81-86.
  21. Sankar R, Archunan G (2008): Identification of putative pheromones in bovine faeces in relation to estrus detection. *Anim Sci* 103:149-153.
  22. Schneider G, Baringhaus KH (2007): Receptor-ligand interaction. In: *Molecular Design*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
  23. Soung MG, Cho YG, Park CK, Sung ND (2008): The search of pig pheromonal odorants for biostimulation control system technologies: Prediction of pig pheromonal tetrahydrofuran-2-yl family compounds by means of ligand based approach. *Reprod Dev Biol* 32: 141-146.
  24. TSAR (2000) Proprietary Software (Ver. 3.30), Oxford Molecular Ltd.
  25. Tegoni M, Pelosi P, Vincent F, Spinelli S, Campanacci V, Grolli S, Ramoni R, Cambillau C (2000): Mammalian odorant binding proteins. *Biochim Biophys Acta* 1482:229-240.

(접수일자: 2009. 7. 1 / 채택일자: 2009. 9. 2)