

Acetyl-CoA Carboxylase에 대한 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체들의 분자 도킹과 제초활성

최원석 · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학과

(2010년 8월 12일 접수, 2010년 8월 20일 수리)

Molecular Docking to Acetyl-CoA Carboxylase of 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide Analogues and Their Herbicidal Activity

Won-Seok Choi and Nack-Do Sung*

Department of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

To search the new potent herbicidal agents by receptor-based approach, the interactions between receptor and substrate molecules from molecular docking to acetyl-CoA carboxylase(PDB code: 3K8X) of 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide analogues (1-38) as substrate molecules were performed and discussed quantitatively. The most of the substrate molecules were formed 2 H-bonds between carbonyl oxygen atom of the substrate molecules and the amino acid residues (Ala1627 and Ile1735) in binding site of acetyl-CoA carboxylase (ACCase). But, the substrate molecules such as R₁=Acetyl substituents (6 & P9) were formed 3 H-bonds between H-bond acceptors in the substrate molecules and the H-bond donors in three amino acid residues including the rest residue (Gly1998). Therefore, the inhibitory activity factors of the substrate molecules against ACCase are due to the H-bonding characters that will be able to apply to the optimization of herbicidal agents.

Key words ACCase, 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamides, H-bond acceptor, H-bond donor, Molecular docking, Receptor-based approach

서 론

제초제의 분류기준(HRAC, 2002)에 의한 제초작용 기작은 약 20여가지 유형으로 알려져있다. 작용 기작에 따른 약제의 분포비율은 제2광합성(PS-II) 저해제, acetolactate synthase

(ALS) 저해제 및 Cell division 저해제 등, 3가지 유형의 저해제가 전체 제초제의 약 50%를 차지하고 있다. 이외에 ACCase 저해제로는 약 15종이 상용화되어 있으며 이중에서 aryloxy phenoxypropionic acid계 제초성 화합물들은 2량체 형태의 ACCase 중 carboxyltransferase(CT) domain을 저해하며 ACCase는 이산화탄소와 acetyl-CoA로부터 malonyl-CoA의 생성과 지방산 생합성 및 산화반응을 조절한다(Ramsay

*연락처 : Tel. +82-42-821-6737, Fax. +82-42-821-6731
E-mail: ndsung15@hanmail.net

등, 2001; Cronan 등, 2002).

ACCCase는 biotin carboxylase(BC) 및 CT와 같은 두 촉매 활성을 통하여 acetyl-CoA의 비가역적인 카르복실화 반응으로 malonyl-CoA를 생산하는 촉매로서 biotin 의존성 효소이며(Lever 등, 2002) 제초제의 주요 작용점으로 잘 알려져있다(Inclledon 등, 1997). 특히, cyclohexanedione-oxim계 화합물인 Haloxyfop 및 Fenoxaprop-ethyl계 화합물인 Tepraloxym은 ACCCase의 잠재적인 저해제로 오래전부터 제초제로 매우 널리 사용하고 있다(Gronwald, 1991; Delye 등, 2003; Takahashi 등, 2002). 그럼에도 불구하고, 근래에 이르기까지 제초제 Tepraloxym의 저해활성에 대한 분자 메커니즘이 알려지지 않았다(Xiang 등, 2009). 일찍이 반응속도론적인 연구결과들은 앞서의 두 화합물들이 ACCCase의 반응점에 결합할것임을 암시하였다(Rendia 등, 1990). 그러나 두 계열 화합물 사이의 의미있는 화학적인 다양성은 Haloxyfop에 기초한 Tepraloxym의 ACCCase에 대한 결합형태를 예측하기가 어려웠다.

근래에는 제초제 fenoxaprop-p-ethyl(FE)의 광분해 경로와 그 생성물(Lin 등, 2008), 야생귀리에 대한 저항성(Kashani 등, 2007), 저항성으로 변형된 ACCCase의 역할(Pomprom 등, 2006) 및 FE 처리시, 다년생 잔디에 대한 가능한 저항성 메커니즘에서 제초제 물질대사의 비율과 식물 저항성 사이에는 좋은 상호관계가 있었다는 사실, 등이 검토된 바 있다(Bakkali 등, 2007). 뿐만 아니라, ACCCase α gene과 유방암 민감성에 대한 연구(Sinilnikova 등, 2004)와 ACCCase저해제로서 (4-piperidinyl)piperazine 유도체의 설계와 합성에 관하여 보고되기도 하였다(Chonan 등, 2010). 또한, 저자는 ACCCase 저해제로서 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamides 유도체들의 구조적인 특성을 이해하고자(성 등, 1999) 발아전 후, 논피에 대한 제초활성을 2D-QSAR(성 등, 2000a; 2000b), 3D-QSAR(성 등, 2005a) 및 HQSAR(성 등, 2005b) 등, ligand-based approach 방법으

로 다양하게 검토하였으며 그 결과로부터 제초활성은 소수성과 phenoxy-N-phenylpropionamido기에 의존적임을 보고하였다.

본 연구에서는 새로운 ACCCase 저해제를 탐색하기 위하여 receptor-based approach 방법으로 ACCCase에 대한 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamides 유도체(Fig. 1)의 분자도킹을 통하여 기질 분자들과 ACCCase 수용체 사이의 수소결합성을 위시한 상호작용에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

수용체와 도킹 스코어

Fenoxaprop-ethyl계 제초성 화합물로 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 기질 유도체(1-38)의 N-phenyl 고리상 치환기(R_1 - R_5) 변화에 따르는 발아 후, 논피(*Echino-crus gallii*)에 대한 제초활성값(Obs.pI₅₀)은 전보의 자료를(성 등, 2005b) 활용하였다. 기질분자의 ACCCase(EC. 6.4.1.2)에 대한 저해활성과 그 메커니즘을 이해하고자 Surflex-dock Sybyl X 프로그램(Ver. 8.1.1)(Tripos, 2009)을 이용하여 분자도킹을 실행하였으며 ACCCase-Tepraloxym 착 화합물의 X-ray 결정구조로부터(Protein data bank, PDB code: 3K8X) Tepraloxym의 3차원 구조를 인용하였다(Xiang 등, 2009). Surflex-dock 프로그램은 특정 리간드와 활성부위의 상호작용을 반영한 protomol이라는 고유의 알고리즘을 이용하여 결합부위를 설정한다. Protomol은 활성부위의 형태학적인 표면을 가장 잘 특성화한 probe molecules로 구성되며 반응점내의 입체효과를 반영한 CH₃, C=O 및 N-H 그룹으로 구성되어 있다(Quian 등, 2007; Jain, 2003; Holt 등, 2008). Surflex-Dock의 docking score(DS)는 protein-ligand complex의 binding affinity(kd)와 X-ray 결정구조에 기초하여 실험적으로 유도된 scoring function을 사용하며 Van der Waals 표면 사이의 2Å 이내에서 상호 영향을 주고받는 수용체의 아미노산 잔기들과의 결합특성으로 hydrophobic, polar, repulsive, entropic, solvation 및 crash 등이 요인들이 포함된다(Jain, 1996). 또한, 여기에서 crash score는 분자도킹시 입체적인 요소에 의하여 반응점에서 기질분자가 벗어나는 정도를 의미한다.

기질분자의 분자도킹

ACCCase-Tepraloxym 착 화합물로부터 ACCCase 수용

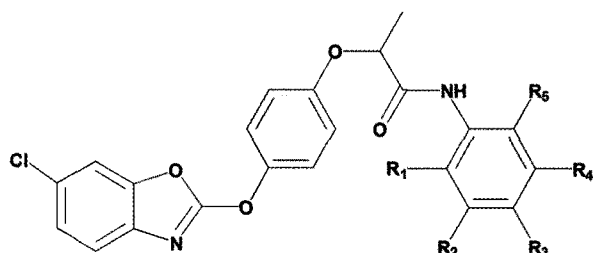


Fig. 1. General structure of 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide analogues (1-38) as potent ACCCase inhibitor.

체의 carboxyltransferase(CT) domain내 반응점에 대한 기질 분자의 정확한 분자도킹을 위하여(Patrick 등, 2008) 수용체내에 존재하는 모든 물 분자를 제거하였다. 그리고 결정 구조상의 기질 분자인 Tepraloxym 분자를 수용체에서 제거한 다음에 Tepraloxym 분자를 수용체에 다시 도킹하여 수용체가 기질분자 제거전의 형태와 같은지를 확인한 후에 기질 분자들의 도킹을 실행하였다. 이때, 결정구조상 Tepraloxym의 구조와 도킹된 Tepraloxym의 RMSD(Root Mean Square Distance)가 계산된다(Yusuf 등, 2008; Xiang 등, 2009). RMSD는 결정구조로 밝혀진 특정 리간드의 pose와 그 분자가 도킹되었을 때의 pose를 비교하여 각 원자사이의 거리차이를 제공하여 평균한 값으로써 낮은 RMSD 값은 도킹결과의 신뢰성을 판단하는 하나의 척도가 된다. 통상, 분자도킹시 2Å 이내의 RMSD 값을 보여야 기질분자 제거 전후에 수용체의 구조들이 유사성이 있는 것으로 판단하며 본 연구에서 Tepraloxym은 RMSD=0.794Å의 낮은 수치를 나타내었다.

결과 및 고찰

도킹스코어와 제조활성

먼저, Protomol 알고리즘에 따라 설정된 기질 유도체가 도킹되는 수용체 ACCase(PDB code: 3K8X)의 CT domain내 반응점 부위내에 존재하는 아미노산 잔기들의 특성을 파악하기 위하여 전형적인 H-bond 길이(NH-O)가 3.04Å 정도인 점을 감안하여(Etter, 1990) ACCase 저해제인 Tepraloxym 분자 주위 3.5Å 이내의 거리에 위치한 아미노산 잔기들을 Table 1에 정리하였다. 결합 부위내 총 23개의 아미노산 중에서 전하를 띠는 아미노산은 존재하지 않았으나 극성 아미노산이 3개이고 비극성 아미노산 20개가 존재하므로써 소수성적인 환경이 약 7:1의 비율로 지배적이었다. 또한, 기질 유도체(1-38)의 논피에 대한 제조활성값(Obs.pI₅₀)과 계산된 소수성(ClogP) 상수 그리고 수용체의 결합 부위에 대한 도킹 스코어(DS), crasch 스코어 및 polar 기여값들을 Table 2에 각각 요약하

였다.

제조활성(pI₅₀)=3.93~5.59)과 치환기(R)의 소수성(Pi)은 포물선 관계이었으나(성 등, 1999) DS, crash 및 polar 기여 정도와는 모두 상관성이 낮았다. 왜냐하면, 이들 값들은 기질 분자가 수용체와 만나는 경로상 매질의 극성 그리고 수용체내 동굴형태의 반응점에 이르는 경로 및 반응점내의 소수성을 위시한 위상학적 및 정전기적인 여러 가지 불특정한 요소들에 의하여 영향을 받기 때문으로 설명된다. 소수성은 생체내 침투이행에 가장 중요한 요소로서 분배계수의 크기로 규정되며 분자간 수소결합, 이온화 정도 및 분자의 입체적인 크기와 깊은 관련성을 가진다. 일반적으로 120여 품목 제조제들의 소수성 분포범위는 logP=-0.50~5.30이나 주로 3.0 부근에 분포되어 있으므로(Tanaka 등, 1995; 성 등, 2003) 기질 화합물들의 소수성은 기준을 약간 벗어나는 높은 수준이다. 대체로 기질 유도체들은 소수성이 크고 H-bond donor로서 carbonyl-기를 포함하고 있는 경우에는 비교적 DS가 높은 경향을 나타내었고 DS=10.0 이상의 화합물이 6개나 포함되어있다. 표준물질인 Tepraloxym 분자도 매우 높은 DS=9.96을 나타내었고 ACCase(PDB code: 1UYS)에 도킹한 Haloxymop (ClogP; 3.802, DS; 6.86, Crash; -1.02 및 Polar; 1.36)은 Tepraloxym에 비하여 낮은 값들이었다. 그리고 crasch score가 모두 큰 음의 값을 나타내는 것은 반응점의 위상학적인 크기보다 기질분자가 크기 때문이며 도킹모습에서도 기질분자의 6-chloro-2-benzoxazolyl group 고리 부분이 반응점에서 벗어나 활성화에 기여하지않는다는 사실(성 등, 2005b)과 잘 일치하였다.

기질분자의 결합특성

ACCase 결정 구조로부터 확인한 표준물질인 Tepraloxym의 binding mode는 알려진 다른 저해제인 Haloxymop과는 다른 양상으로 결합하였다. 즉, Haloxymop는 분자내 H-bond acceptor로서 carboxyl group의 hydroxyl oxygen 원자는 결합 부위내의 아미노산 잔기, Ala1627 및 Ile1735의 H-bond

Table 1. Characteristics of amino acid residues around (3.5Å) binding site in carboxyltransferase (CT) domain of ACCase (PDB code: 3K8X) as receptor of the substrate molecules

Types	Amino acid residues
Acidic & Basic	None.
Hydrophilic	Ser1708, Tyr1738, Thr1757
Hydrophobic	Val1733, 1975, 2001, 2002, 2024, Gly 1626, 1734, 1758, 1997, 1998, Ala1627,1712, Ile1629,1735,2033, Leu1705,1742,1756,2025, Phe1956

Note: Hydrophilic groups, 3 & Hydrophobic groups, 20.

Table 2. Hydrophobicity, observed herbicidal activity (*Obs.pI₅₀*) of substrate molecules, and their docking scores (DS) for ACCase (PDB code: 3K8X)

No	Substituents (R)					ClogP ^{a)}	Obs.pI ₅₀ ^{b)}	DS	Crash ^{c)}	Polar ^{d)}
	1	2	3	4	5					
1	H	H	H	H	H	5.133	4.83	7.89	-1.14	1.74
2	n-C ₃ H ₈	H	H	H	H	5.820	4.75	7.53	-3.91	1.56
3	2-C ₂ H ₅	H	H	H	H	5.291	4.70	9.99	-1.94	1.59
4	F	H	H	H	H	4.934	5.14	8.35	-1.21	1.88
5	i-C ₃ H ₈	H	H	H	H	5.660	5.16	10.49	-1.67	1.55
6	Cl	H	H	H	H	5.254	5.15	8.69	-1.55	1.59
7	Me	H	H	H	H	4.982	5.55	7.70	-1.59	2.03
8	OMe	H	H	H	H	4.619	5.53	9.45	-1.26	2.13
9	CH ₃ CO	H	H	H	H	5.472	4.50	10.03	-1.59	2.77
10	OH	H	H	H	H	4.696	5.33	8.55	-1.64	2.06
11	H	OMe	H	H	H	5.209	5.43	8.23	-1.86	1.15
12	H	OH	H	H	H	4.466	5.13	7.53	-1.66	1.96
13	H	H	Me	H	H	5.632	5.51	8.99	-1.26	2.31
14	H	H	OMe	H	H	5.209	5.56	8.25	-1.37	0.10
15	H	H	C ₆ H ₅	H	H	7.021	4.78	10.43	-2.73	2.22
16	H	H	C ₂ H ₅	H	H	6.161	5.49	7.41	-3.35	2.13
17	H	H	CN	H	H	5.164	4.96	7.83	-1.62	2.17
18	H	H	CH ₂ CN	H	H	4.555	5.13	9.26	-2.21	3.26
19	H	H	CO ₂ Me	H	H	5.572	4.87	9.10	-3.13	3.30
20	H	H	CO ₂ Et	H	H	6.101	4.89	10.45	-3.57	2.17
21	H	H	CH ₂ CO ₂ Et	H	H	5.340	3.93	9.61	-4.09	2.14
22	H	H	CH ₂ CO ₂ Me	H	H	4.811	4.89	8.00	-3.93	0.89
23	Me	H	OMe	H	H	5.058	5.46	9.08	-2.18	2.13
24	Me	H	Me	H	H	5.481	5.59	8.50	-2.25	2.12
25	Me	H	OH	H	H	4.315	4.74	8.93	-1.69	1.17
26	Me	H	OCH ₂ CO ₂ Et	H	H	5.205	4.78	8.20	-1.52	0.86
27	Me	H	OBu	H	H	6.645	4.76	9.18	-4.52	1.86
28	Me	H	CO ₂ H	H	H	5.020	4.73	6.82	-3.36	0.00
29	Cl	H	OCH ₂ CO ₂ Me	H	H	4.888	4.79	10.14	-3.15	2.04
30	Cl	H	OCH ₂ CO ₂ H	H	H	4.558	4.78	10.70	-2.12	2.02
31	F	H	OCH ₂ CO ₂ Et	H	H	5.097	4.58	8.05	-3.92	1.37
32	OMe	H	H	Me	H	5.118	4.67	7.59	-3.84	2.27
33	F	H	H	H	F	4.567	5.15	8.99	-1.10	1.67
34	F	F	F	H	H	5.202	5.59	8.72	-1.86	0.77
35	F	F	H	H	F	4.672	4.95	7.25	-2.90	3.33
36	Cl	H	H	H	Me	5.103	4.79	8.85	-2.71	2.30
37	F	F	F	H	H	5.272	5.46	8.05	-1.40	2.11
38	F	H	F	H	H	5.167	4.05	8.32	-0.97	1.68
	Tepraloxdim					2.665	4.83	9.96	-2.13	3.19

^{a)}Calculated hydrophobicity, ^{b)}Herbicidal activity of substrates with post-emergence in *in-vivo* against barnyard grass., ^{c)}The degree of inappropriate penetration into the protein by the ligand, ^{d)}The amount of the total affinity score that is due to polar interactions.

donor인 imino(H-N) H원자와 2.93 Å 및 3.26 Å의 거리에서 각각 2개의 수소결합을 형성한다(Zhang 등, 2004). 그러나 CT domain의 반응점 영역에 결합하고 있는 Tepraloxym의 경우에는 분자내 cyclohexenyl 고리상 carbonyl oxygen 원자가 Haloxyfop의 경우와 같이 2개의 아미노산 잔기(Ala1627 및 Ile1735)의 imino H원자와 공통적으로 각각 2.60 Å 및 3.10 Å의 거리에서 2개의 H-bond를 형성하지만, 추가적으로 hydroxyl oxygen 원자는 Gly1998의 imino H원자와 2.80 Å의 거리에서 1개의 H-bond를 형성하여(Xiang 등, 2009) 총 3개의 H-bond로 안정적인 기질-수용체 착 화합물을 형성하는 특징을 나타내었다.

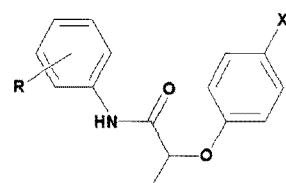
ACCase 수용체에 대한 기질 유도체들(1-38)의 결합특성을 알아보기 위하여 가장 DS가 제일 높았던 화합물(30; DS=10.70)의 도킹 모습을 Fig. 2에 나타내었다. 이 화합물(30)을 위시한 모든 기질 유도체들은 Haloxyfop과 같이 Ala1627 및 Ile1735와 각각 2.06 Å, 2.35 Å의 거리에서 2개의 H-bond를 형성하지만 Gly1998과는 H-bond를 형성하지 않았으나 Tepraloxym보다 높은 DS를 나타내었다. 그림으로 제시하지는 않았으나 기질 유도체중에서 유일하게 R1=Acetyl-치환체(9; DS=10.33)의 DS는 매우 높았으며 H-bond acceptor로서 acetyl-기중 carbonyl oxygen 원자는 H-bond donor로서 아미노산 잔기, Ala1627(2.34 Å) 및 Ile1735(2.12 Å)의 imino H원자와 그리고 imino-기 인접의 carbonyl oxygen 원자는

아미노산 잔기, Gly1998(2.13 Å)과 모두 3개의 수소결합을 형성하는 특이함을 나타내었다. 이로부터 기질 유도체들이 모두 동일한 Fenoxaprop-ethyl계 화합물이지만, 구조적인 특이성으로 인하여 서로 다른 메카니즘으로 제조활성을 발현한다는 사실을 알았다.

설계분자의 결합 상호작용

기질 유도체들(1-38)의 치환기(R₁-R₅) 변화와 관측된 제조활성(Obs.pI₅₀) 사이의 최적화된 HQSAR 모델로 설계된 고활성 분자들의 제조활성은 기질분자중 phenoxy-N-phenylpropionamido group에 의존적이었다(성 등, 2005b). 이에 기초하여 설계된 화합물들(P1-P8)과 기질 유도체(Table 2) 중에서 유일하게 R₁=Acetyl-치환체(6)가 Tepraloxym의 경우와 같이 3개의 H-bond를 형성하였다는 앞서의 근거에 따라 Acetyl-치환체(P9)를 추가하여 그 결과를 Table 3에 정리하였다. 대부분 화합물들의 DS는 제조제 Tepraloxym(DS: 9.96)보다 낮았으나 Acetyl-치환체(P9)의 경우에는 높았다. 여기에서 DS가 낮은 이유는 기질 분자내 삭제된 6-chloro-2-benzoxa-zolyloxy 고리의 소수성 감소가(성 등, 2005b) 원인중 하나로 생각된다. 또한, phosphino(H₂P)-치환체(P3, P6-P8)가 H-bond donor로서 활성증가에 기여할 것으로 기대하였으나 도킹결과, 아무런 기여요소가 확인되지 않았다. 한 예로, Fig. 3에는 ACCase에 대한 Acetyl-치환체(P9)의 도킹모습을 제시

Table 3. Hydrophobicity and predicted herbicidal activity (Pred.pI₅₀) of designed substrate analogues by optimized HQSAR model and their docking scores to ACCase



No.	Substituents (R)		ClogP ^{a)}	Pred.pI ₅₀ ^{b)}	DS	Crash ^{c)}	Polar ^{d)}
	R	X					
P1	2-Me	H	2.835	8.64	8.14	-1.29	1.76
P2	4-F	isobutoxy	4.933	9.06	8.24	-1.72	2.28
P3	4-difluorophosphino	isobutoxy	3.385	8.95	10.13	-1.91	1.14
P4	4-F	vinylxy	4.291	9.03	7.60	-0.90	1.80
P5	4-F	1-propenyloxy	4.820	9.03	8.27	-0.98	1.83
P6	4-difluorophosphino	isobutoxy	2.743	8.95	9.62	-1.66	3.24
P7	4-difluorophosphino	vinylxy	3.272	8.92	9.28	-2.12	1.40
P8	4-phosphino	1-propenyloxy	3.385	8.88	8.68	-1.74	1.15
P9	2-Ac, 6-OH	H	2.870	-	10.08	-1.14	2.99

^{a)}Calculated hydrophobicity, ^{b)}Predicted herbicidal activity by the optimized HQSAR PVI-1 model (Sung et. al., 2005b)., ^{c)}The degree of inappropriate penetration into the protein by the ligand, ^{d)}The amount of the total affinity score that is due to polar interactions.

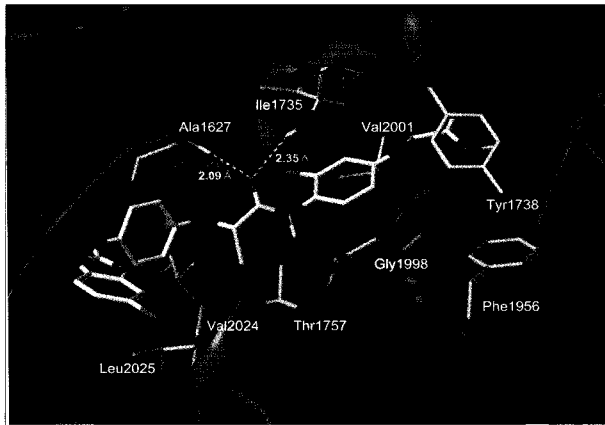


Fig. 2. Predicted binding mode and docking pose between the substrate (30) and active site in CT domain of ACCase. Key residues, H-bonds (Yellow dot line) and its distances were labeled. The α -helices were shown as helices or cylinders, while β -sheets were shown as arrows and the loop regions as tubes.

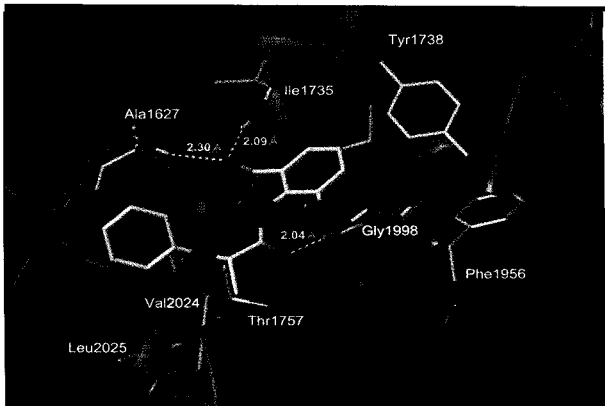


Fig. 3. Predicted binding mode and docking pose between designed substrate (P9) and active sites in CT domain of ACCase. H-bonds (Yellow dot line) and its distances between two atom pairs are displayed.

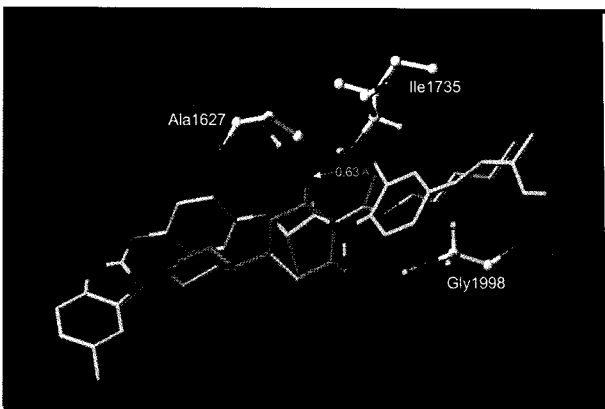


Fig. 4. Overlay of the binding mode of Tepraloxydim (in Brown) and the substrate (30, in Cyan). The distance (0.63 Å) between two oxygen atoms are displayed.

하였다. 유일하게 이 화합물은 2개의 아미노산 잔기(Ala1627 및 Ile1735)와는 물론, Gly1998과도 H-bond를 형성하여 Tepraloxydim과 동일하게 3개의 H-bond를 형성하였으나 나머지 화합물은 Haloxyfop의 경우와 같이(Zhang 등, 2004), Ala1627 및 Ile173와 2.93 Å 및 3.26 Å의 거리에서 2개의 수소결합을 형성하였다. 그러므로 Acetyl-기와 같은 H-bond acceptor가 도입된 화합물(P9)은 3개의 H-bond로 인하여 crasch score(-1.14)가 Tepraloxydim보다 작고 DS가 크기 때문에 ACCase에 대한 저해활성 증가에 바람직하게 작용할 것으로 판단된다.

제초활성 메커니즘

기질분자의 수용체로서 ACCase의 3차원 구조를 이해하고 Tepraloxydim 및 Haloxyfop 분자들과의 차별성을 탐색하기 위하여 ACCase의 기질분자인 Acetyl CoA 대신에 기질분자들이 결합된 Fenoxaprop-ethyl계 화합물의 착 화합물인 Haloxyfop-ACCase 착물(Zhang 등, 2003)을 선택하지 않고 Cyclohexanedione-oxim계 화합물의 착 화합물인 Tepraloxydim-ACCase 착물(Xiang 등, 2009)을 선택하였다. 그 이유는 기질분자와 Tepraloxydim 분자를 ACCase에 도킹하였을 경우에 두 분자중 반응점인 carbonyl oxygen 원자가 공통적으로 같은 형태로 위치하므로서 수용체내 아미노산 잔기와 생성되는 수소결합성을 비교하기가 용이하였기 때문이었다. Fig. 4에는 이러한 관계를 보여주는 ACCase내 도킹된 Tepraloxydim 분자와 DS값이 가장 큰 기질분자(30; DS=10.70)의 중첩된 모습을 제시하였다. 두 분자내 H-bond acceptor로서 carbonyl oxygen 원자들은 0.63 Å의 매우 가까운 거리에 위치하고 있으며 이들은 2개의 H-bond donor로서 아미노산 잔기, Ala1627 및 Ile1735의 imino H원자와 공통적으로 2.5 Å 이내에서 H-bond를 형성한다. 따라서 기질분자가 제초활성을 나타내기 위한 ACCase의 반응점은 2개의 아미노산 잔기(Ala1627 및 Ile1735)와의 H-bond 형성이 필수적이며 부수적으로는 1개의 Gly1998 잔기와 H-bond를 생성하므로써 제초활성이 발현된다고 판단된다. 또한, 기질분자의 구조적인 측면에서는 N-phenyl 고리상 ortho-위치(R_1 - 또는 R_5 -치환기)에 carbonyl 이나 hydroxyl oxygen 등과 같은 H-bond acceptor가 아미노산 잔기의 H-bond donor들과 수소결합성이 증가하여 기질-수용체가 H-bond로 안정적인 착 화합물을 형성하므로써 지속적으로 제초활성을 유지하는데 기여하는 것으로 설명된다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단(NRF) 우수연구센터(ERC) 지원 (No. 2010-0062913)으로 수행되었습니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- Bakkali, Y., Ruiz-Santaella, J. P., Osuna, M. D., Wagner, J., Fischer, A. J. and Prado, R. D. (2007) Late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): Mechanisms involved in the resistance to fenoxaprop-pethyl. *J. Agric. Food Chem.* 55: 4052~4058.
- Chonan, T., Tanaka, H., Yamamoto, D., Yashiro, M., Oi, T., Wakasugi, D., Ohoka-Sugita, A., Io, F., Koretsune, H. and Hiratate, A. (2010) Design and synthesis of disubstituted (4-piperidinyl)piperazine derivatives as potent acetyl-CoA carboxylase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20:3965~3968.
- Cronan Jr, J. E. and Waldrop, G. L. (2002) Multi-subunit acetyl-CoA carboxylases. *Prog. Lipid Res.* 41:407~435.
- Delye, C., Zhang, X. -Q., Chalopin, C., Michel, S., Powles, S. B. (2003) An isoleucine residue within the carboxyl-transferase domain of multidomain acetyl-coenzyme A carboxylase is a major determinant of sensitivity to aryloxyphenoxypropionate but not to cyclohexanedione inhibitors. *Plant Physiol.* 132: 1716~1723.
- Etter, M. C. (1990) Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds. *Acc. Chem. Res.* 23:120~126.
- Gronwald, J. W. (1991) Lipid biosynthesis inhibitors. *Weed Sci.* 39:435~449.
- Holt, P. A., Chaires, J. B. and Trent, J. O. (2008) Molecular Docking of Interactions and Groove-Binders to Nucleic Acids Using Autodock and Surflex. *J. Chem. Inf. Model.* 48:1602~1615.
- HRAC (2002) Publications, Classification of Herbicides according to Mode of Action, Herbicide Resistance Action Committee, Plant Protection. Org/HRAC.
- Incedon, B. J. and Hall, J. C. (1997) Acetyl-CoA carboxylase: Quaternary structure and inhibition by graminicidal herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 57:255~271.
- Jain, A. N. (2003) Surflex: fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *J. Med. Chem.* 46:499~511.
- Jain, A. J. (1996) Scoring noncovalent protein-ligand interactions: A continuous differentiable function tuned to compute binding affinities. *J. Comp.-Aided Mol. Des.* 10:427~440.
- Kashani, F. B., Alizade, H. M. and Zand, E. (2007) Investigation the resistance of wild oat (*avena ludoviciana* Durieu.) to fenoxaprop-p-ethyl by whole plant bioassay and seed bioassay. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10:72~77.
- Levert, K., Waldrop, G. and Stephens, J. (2002) A biotin analog inhibits acetyl-CoA carboxylase activity and adipogenesis. *J. Biol. Chem.* 277:16347~16350.
- Lin, J., Chen, J., Wang, Y., Cai, X., Wei, X. and Qiao, X. (2008) More toxic and photoresistant products from photo-degradation of fenoxaprop-p-ethyl. *J. Agric. Food Chem.* 56:8226~8230.
- Patrick, A. H., Jonathan, B. C. and John, O. T. (2008) Molecular docking of interactions and groove-binders to nucleic acids using autodock and Surflex. *J. Chem. Inf. Model.* 48: 1602~1615.
- Pornprom, T., Mahatammuchoke, P. and Usui, K. (2006) The role of altered acetyl-CoA carboxylase in conferring resistance to fenoxaprop-P-ethyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees). *Pest Management Sci.* 62:1109~1115.
- Quian, L., Brian, M., Smith, K. and Smith, J. (2007) Tagged fragment method for evolution structure-based De Novo Lead generation and optimization. *J. Med. Chem.* 50:5392~5402.
- Ramsay, R. R., Gandour, R. D., Van der Leij, F. R. (2001) Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim. Biophys. Acta.* 1546:21~43.
- Rendia, A. R., Craig-Kennard, A. C., Beaudoin, J. D. and Breen, M. K. (1990) Inhibition of the acetyl-coenzyme A carboxylase by two class of grass-selective herbicides. *J. Agric. Food Chem.* 38:1282~1287.
- Sinilnikova, O. M., Ginolhac, S. M., Magnard, C., Leone, M., Anczukow, O., Hughes, D., Moreau, K., Thompson, D., Coutanson, C., Hall, J., Romestaing, P., Gerard, J. P., Bonadona, V., Lasset, C., Goldgar, D. E., Joulin, V., Venezia, N. D. and Lenoir, G. M. (2004) Acetyl-CoA carboxylase a gene and breast cancer susceptibility. *Carcinogenesis.* 25: 2417~2424.
- Takahashi, A. S. and Tanaka, K. (2002) Mechanism of herbicidal activity of a new cyclohexane-1,3-dione, tepraloxymid to *Poa annua* L. *Weed Biol. Management.* 2:84~91.
- Tanaka, S., Takahashi, M., Funaki, Y., Izumi, K., Takano, H. and Miyakado, M. (1995) Hydrophobicity and systematic 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 Fujita, T.). ACS Symposium series No. 606, American Chemical society. Washington, DC. USA.
- Tripos L. P. (2009) A Certara-Company. 1699 S. Hanley Rd., St. Louis, MO 63144-2319, USA.
- Xiang, S., Callaghan, M. M., Watson, K. G. and Tong, L. (2009) A different mechanism for the inhibition of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase by tepraloxymid, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106:20723~20727.
- Yusuf, D., Davis, A. M., Kleywegt, G. J. and Schmitt, S. (2008)

- An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs. RMSD. *J. Chem. Infor. Modeling.* 48:1411~1422.
- Zhang, H., Yang, Z., Shen, Y. and Tong, L. (2003) Crystal structure of the carboxyl-transferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase. *Science.* 299:2064~2067.
- Zhang, H., Tweel, B. and ong, L. (2004) Molecular basis for the inhibition of the carboxyltransferase domain of acetyl coenzyme-A carboxylase by haloxyfop and diclofop, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 101:5910~5915.
- 성낙도, 이상호, 장해성, 김대황, 김진석 (1999) 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체 중 N-phenyl 치환체들에 의한 벼와 피의 선택적 제초활성에 미치는 구조-활성관계. *한국농약과학회지.* 3:11~19.
- 성낙도, 이상호, 고영관, 이경모, 김대황, 김태준 (2000a) 수답에서 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체 중 N-phenyl 치환체들의 제초활성. *한국농약과학회지.* 4:21~28.
- 성낙도, 이상호, 류재욱, 우재춘, 구동완, 김대황 (2000b) 발아전 후 벼의 약해에 미치는 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체 중 N-phenyl 치환기의 효과. *한국농약과학회지.* 43:52~56.
- 성낙도, 송선섭 (2003) 제초제의 활성성분에 대한 물리-화학 파라미터의 범위. *한국농약과학회지,* 7:58~65.
- 성낙도, 정훈성 (2005a) 새로운 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체들의 제초활성에 관한 3차원적인 정량적 구조와 활성과의 관계. *한국응용생명화학회지.* 48:252~257.
- 성낙도, 김대황, 정훈성 (2005b) 새로운 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체들의 제초활성에 관한 HQSAR 모델과 높은 활성 화합물의 예측. *한국농약과학회지,* 9:279~286.

Acetyl-CoA Carboxylase에 대한 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체들의 분자 도킹과 제초활성

최원석 · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학과

요 약 수용체 접근 방법으로 새로운 제초성 물질을 탐색하기 위하여 acetyl-CoA carboxylase(PDB code: 3K8X)에 대한 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체(1-38)의 분자도킹으로부터 기질분자와 수용체 사이의 상호작용을 정량적으로 검토하였다. 대부분의 기질분자들은 ACCase의 반응점내 아미노산 잔기들(Ala1627 및 Ile1735) 사이에 2개의 수소결합이 생성되었다. 그러나 R₁=Acetyl 치환체(6 및 P9)와 같은 기질분자들은 나머지 잔기(Gly1998)를 포함하는 3개의 아미노산 잔기내 수소결합 주계들과 기질분자의 수소결합 받개들 사이에 3개의 수소결합이 생성되었다. 그러므로 수소결합 특성들에 기인한 기질분자들의 ACCase에 대한 저해활성 요소들은 제초성 물질을 최적화하는데 적용될 수 있을것이다.

색인어 ACCase, 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy)phenoxy-N-phenylpropionamide 유도체, 분자도킹, 수용체 접근방법, 수소결합 주계, 수소결합 받개