

두 점박이 응애(*Tetranychus urticae*)에 대한 *N'*-phenyl-*N*-methylformamide 유도체의 살충활성과 새로운 고효율성 화합물들의 설계

이재황 · 최원석 · 이동국¹ · 정근희¹ · 고영관² · 김태준³ · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학학과, ¹목우연구소(주),
²한국화학연구원 바이오소재연구센터, ³(주)동부한농 동부기술원

(2010년 8월 13일 접수, 2010년 8월 23일 수리)

Insecticidal Activity of *N'*-phenyl-*N*-Methylformamide Analogues against Two Spotted Spider Mite (*Tetranychus urticae*) and Design of New Potent Compounds

Jae-Whang Lee, Won-Seok Choi, Dong-Guk Lee¹, Kun Hoe Chung¹, Young Kwan Ko², Tae Joon Kim³ and Nack-Do Sung*

Department of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea, ¹Moghu Research Center Ltd., BVC #311, KRIBB, 52 Eoeun-dong, Yuseong, Daejeon 305-333, Korea, ²Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O.Box 107, Yuseong-gu, Daejeon 305-600, Korea, ³Dongbu Advanced Research Institute, 103-2 Moonji-dong, Yuseong, Daejeon 305-708, Korea

Abstract

To predict and design of new potent insecticidal compounds, the two dimensional quantitative structure-activity relationships (2D-QSARs) and molecular hologram quantitative structure-activity relationships (HQSARs) between the various physicochemical parameters as descriptors of *N'*-phenyl-*N*-methylformamide analogues (1-22) and their insecticidal activity against the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) were discussed quantitatively. From 2D-QSAR models (1 & 3), the width (B₂) of R₃-group as sterically factor and optimal total dipole moment (TDM=2.025D) of R₄-group were mainly influenced to increase the activity. Therefore, the activities were depend upon the R₃- and R₄-groups. Particularly, it is predicted that the activity of newly designed potent compound (P1; EC₅₀=0.516 ppm) by 2D-QSAR models (3) and HQSAR model F2 was about 34.3 fold higher than that of the commercialized insecticide, Amitraz (EC₅₀=17.7 ppm).

Key words 2D-QSAR & HQSAR, inhibitory activity, *N'*-phenyl-*N*-Methylformamide analogues, Two spotted spider mites (*Tetranychus urticae*)

서 론

Amidines은 carboxylic acid와 ester의 질소 유사체로서 비

교적 강한 염기성 화합물이며 질소원자에 결합된 치환기들의 분포와 수에 따라 비치환체, 1-치환체, N,N'-2-치환체, N,N-2-치환체 및 3-치환체 등, 5가지 일반적인 형태의 화합물로 분류된다(Hafelinger, 1975). 이 중에서 3-치환체에 해당하는 formamidines계 화합물은 곤충의 신경전달 물질인 octopamine

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

과 경쟁적으로 octopamine receptor에 작용하여 살충활성을 나타내며 응애류와 진딧물 류를 효과적으로 방제하는 특성이 있다(Evans와 Gee, 1980). Chlordimeform은 최초로 개발된 Formamidine계 살충제로서 발암성 문제를 유발하여 사용이 금지되었다(Aziz와 Knowles, 1973; Hollingworth, 1976). 그러나 현재, Amitraz는 농업과 축산업에 널리 이용되고 있는데 활성본체는 U-40481 또는 BTS-27271이라고 불리는 활성대사 산물로 변환된 화합물인 것으로 밝혀졌다(Harrison 등, 1972). Octopamine은 주로 중추신경계 내에서 각성계(arousal system)와 관련이 있으며 행동각성(behavioral arousal)을 조절하는 작용으로 말초 신경조직에도 작용할 뿐 아니라(Lund 등, 1979), 수용기에 결합하여 제2 전달자(second messenger)인 cAMP(cyclic adenosine monophosphate)의 농도를 높여주는 것으로 알려져 있다(Murdock 등, 1980).

예컨대, Chlordimeform과 Amitraz 등의 formamidine계 살충제는 octopamine 수용체에 대하여 octopamine과 경쟁적으로 결합하여 octopamine의 활성을 차단하는 것이 아니라, octopamine과 유사하게 지속적이고 비정상적인 자극을 일으킨다(octopamine agonism)(Hollingworth 등, 1979). 그러므로 formamidine계 살충제에 중독된 곤충류는 식욕이 저하되어 굶어 죽거나, 흥분하여 비 정상적인 비행을 하거나 또는 번식에 필수적인 생리작용에 교란이 일어나기도 한다. 또한, 이 화합물은 속효성과 2-3주 동안의 잔효성을 나타내며 곤충 특유의 생리작용에 대한 선택성을 가지고 있는 것으로 잘 알려져 있다(Booth, 1988). 또한, 최근에는 수중환경에서 formamidine의 상대적인 안정성에 관한 연구도 보고되었다(Divito 등, 2007).

근래, 저자들은 Imidacloprid 유도체의 살충성에 관한 QSAR(Sung 등, 2006; 1996; Soung 등 2007) 및 그의 가수분해 메카니즘(Sung 등, 1997), 3-benzylidenemyosmine 유도체의 살충성에 관한 HQSAR 분석(Jang 등, 2007) 및 배추좀나방(*Plutella xylostella*, L.)에 대한 2-(n-octyl)pseudothiourea 유도체의 살충활성(Soung 등, 2009) 등에 관련한 3D-QSAR 분석결과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 Octopamine agonist로 알려진 formamidine계 화합물로서 일련의 *N'*-phenyl-*N*-methylformamidine 유도체(1-22) 중, 치환기(R₁-R₄)가 변화함에 따른 두 점박이 응애(*Tetranychus urticae*)의 살충활성에 관한 2차원적인 정량적 구조-활성관계(2D-QSAR)(Hansch, 1976)와 분자 홀로그래피적인 정량적 구조-활성관계(HQSAR)(Heritage 등, 1999)에 관한 최적화된 모델을 유도하여 살충활성에 미치는 구조상 요소들을 분석하고 높은 살충활성을 보이는 새로운 유력한 살충성 화합물을 예측하고 설계하였다.

재료 및 방법

살충활성과 설명인자

두 점박이 응애(*Tetranychus urticae*)에 대한 *N'*-phenyl-*N*-methylformamidine 유도체(1-22)의 살충활성은 문헌값(Lee, 2007)에 기초하였다. 이들 살충활성은 24 및 48시간 후에 각각 측정된 농도별 살충활성(%)을 Graph 프로그램(GraphPad; Ver. 4.0)에 적용하여 50% 활성율을 얻은 다음에 두 값의 평균값을 pI₅₀값으로 전환하여 관측된 살충활성값(Obs.pI₅₀)으로 정하였다. 표준물질로 formamidine계 살충제인 Amitraz(6)의 자료도 포함하였다. 2D-QSAR 분석을 위하여 다루어진 기질 분자로서 *N'*-phenyl-*N*-methylformamidine 유도체의 물리-화학적인 설명인자는 모두 35종으로 분자 전체와 치환기에 대한 값으로 각각 구분하였으며 위상학적, 기하학적, 정전기적 및 양자화학적인 유형으로 구성되어 있다. 예컨대, STERIMOL 파라미터(Å)인 각 치환기(R₁-R₄)의 길이(L: Å)와 폭(B₁~B₅: Å³), 분자나 치환기의 부피(V: Å³), 분자 표면적(MSA: Å²), 분자량(MS: amu.)를 위시하여 소수성(π 또는 logP), 소수성 모멘트(LM), 몰라 굴절율(MR: cm³/mol), 쌍극자 능률(DM: Debye) 및 분자극성 표면적(PSA: Å²) 등, 물리화학 파라미터들을 Accelrys(Ver. 3.3) 프로그램(TSAR, 2000)으로 계산하여 2D-QSAR 모델의 유도에 이용하였다.

2D-QSAR 모델의 유도

기질 유도체의 치환기(R₁-R₄) 변화에 따르는 분자의 설명인자들과 관측된 살충활성값(Obs.pI₅₀)과의 구조-활성관계(SAR)를 분석하기 위하여 다중회귀식 형태의 2D-QSAR 모델을 TSAR(Ver. 3.3) 프로그램과 SAS 통계 프로그램(Ver. 9.2; SAS 2002)을 실행하여 유도하였다. Data set(n=22)이 크지않기 때문에 상관성이 높은 모델을 유도하기 위하여 상관성에서 벗어나는 화합물(outlier; n=5)을 제외시키고 나머지 화합물(training set, n=17)을 대상으로 Hansch 형식(Fujita, 1995)의 2D-QSAR 모델들을 유도하였다. 우연 상관성을 배제하기 위하여 설명인자로서 회귀식의 변수를 3개 이내로 제한하였다. 모델의 통계값 중, r은 상관계수, r²는 유의성이고, q²는 예측성, F는 상관율이며 그리고 s는 표준편차를 각각 나타낸 것이다.

HQSAR 모델의 유도

HQSAR의 실행 및 PLS(Partial least square) 분석은 Sybyl(Ver. 8.1) 프로그램(Tripos Inc.)을 사용하여 살충활성

값과 분자조각 크기 및 특징 사이의 관계로부터 2D-QSAR 모델의 경우와 같은 방법으로 상관성에서 벗어나는 화합물들 (test set=4)을 제외하고 training set(n=18) 화합물들을 대상으로 모델을 유도하였다. 살충활성과 분자조각 크기 사이의 관계를 알아보기 위하여 분자 조각의 수를 생성시키고(2-10) 분자의 홀로그램 길이(53-400 bin)를 넓게 선택하여 HQSAR 계산을 실행하였다. 그 결과, 가장 양호한 상관성을 나타내는 조건(홀로그램 길이; 199 bin 및 조각크기; 7-10)과 분자조각 특징으로서 원자/결합, 연결형태, 수소결합 주계 및 반계의 조합으로 모델들을 유도한 결과, 연결형태(connections) 조건에서 가장 좋은 통계값을 갖는 최적화된 HQSAR 모델 F2를 얻었다. 그리고 optimized QSAR 방법으로(Cycle; 600 및 Hit; 400) 각 치환기(R₁-R₄)가 결합된 위치에 300개의 작용기들을 조합방식으로 도입하여 활성 화합물을 설계하고 최적화 모델로 그들의 살충활성값(Pred.PI₅₀)을 모두 예측하여 비교하였다.

PLS 계산

HQSAR 모델을 유도하기 위한 PLS 계산(Stahle와 Wold, 1988)은 기질분자의 조각 수와 분자의 홀로그램 길이를 선택하여 실시하였다(Heritage 등, 1999). HQSAR 모델의 예측성(q^2)은 leave-one-out(LOO) 교차확인 과정으로 결정하고 적절한 주성분 수를 대입하여 교차확인하지 않고 유도되는 모델에 대한 상관성(r^2_{ncv})을 얻었다. 교차확인 결과, 얻어지는 squared prediction error의 PRESS(predictive residual sum of squares) 값은 작을수록 모델의 예측성이 양호하다고 판단하며 예측성이 q^2 값 (r^2_{cv})=0.50 이상이고 상관성이 r^2_{ncv} =0.90 이상일 경우에 적절한 최적화된 모델로 간주한다. 또한, 최적화 된 HQSAR 모델이 가지고 있는 구조와 살충활성에 관한 정보는 색깔로 암호화 된 기여도로 제시되어 분석되었다. 여기에서 다른 기여도상, 분자 구조식의 골격중에 나타낸 녹색은 가장 큰 활성(green), 파란색은 그 다음으로 높은 활성(cyan), 노란색은 보통보다 약간 높은 활성(yell.)을, 그리고 회색은 보통 평균수준의 살충활성(gray)을 나타냄을 각각 의미한다.

결과 및 고찰

소수성과 살충활성

N'-phenyl-*N*-methylformamide 유도체 별 소수성 상수 (ClogP), 관측된 살충활성값(Obs.PI₅₀), 최적화된 2D-QSAR

(1) 및 HQSAR 모델 F2에 의한 예측값(Pred.PI₅₀) 그리고 이들 두 값들 사이의 차이값(Δ)를 Table 1에 정리하였다. 유기 화합물의 소수성은 생체내 침투이행에 제일 중요한 영향을 미치는 자유 에너지의 척도로서 분배계수의 크기로 규정되며 분자간 수소결합, 이온화 정도 및 분자의 크기와 밀접한 관련성을 가진다(Sung, 2002). 여기에서 ClogP값이 가장 큰 화합물(15; 9.97)과 가장 작은 화합물(22; 1.54) 사이의 차이는 매우 큰(Δ ClogP=8.43) 편이었다. 그러나 살충제 152 품목 중, 약 53%를 점유하는 acetyl choline 저해제들의 85%가 나타내는 측정된 소수성값의 분포범위가 logP=0.0-5.50 임을(Sung, 2003) 감안한다면 여기에서 다른 화합물들의 소수성 크기는 적절한 수준이라고 판단된다. 또한, 관측한 살충활성값은 화합물, 7이 제일 높았고(4.72) 화합물, 11이 제일 낮았으며(3.17) 그 차이는 Δ Obs.PI₅₀=1.55이었다. QSAR 분석시에 화합물들의 살충활성의 차이는 클수록 좋으나 여기에서 다른 화합물들의 살충활성 차이가 크지않은 편이어서 치환기 효과는 낮을것으로 예상된다. 특히, 상용화된 formamidine계 살충제인 Amitraz(6; 4.22)보다 높은 활성을 나타내는 화합물은 4, 7 및 14 등으로 7이(Obs.PI₅₀=4.72) 가장 큰 활성을 보였다.

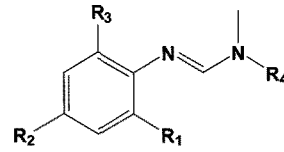
2D-QSAR 모델

기질분자의 치환기(R₁-R₄) 변화에 따른 살충활성과 설명인자와의 관계로부터 유도된 2D-QSAR 모델(1)에 의하여 검토된 3가지 설명인자(MSA, V 및 B₂)들의 correlation matrix로부터 변수들은 서로 독립적이었으며 다음 (1)식이 통계적으로 가장 양호하였다. 그리고 (1)식 다음으로 높은 상관성을 나타내는 모델은 Obs.PI₅₀=0.068(\pm 0.014)*SFI*-0.426(\pm 0.056)*MV*.*Sub*₃+8.210(\pm 1.030)*B*₂.*Sub*₃-3.025(\pm 0.768), (n=17, R²=0.885, F=33.190 및 s=0.678) 이었다. 이 식은 (1)식중 MSA 상수 대신에 전체분자의 Shape Flexibility index(SFI) 만을 포함하고 있다.

$$\text{Obs.PI}_{50} = 3.420 \times 10^{-3} \text{MSA} (\pm 6.435 \times 10^{-4}) - 0.383 \text{V.Sub}_3 \\ (\pm 0.055) + 7.340 \text{B}_2.\text{Sub}_3 (\pm 1.006) - 2.801 (\pm 0.724), \\ (n=17, F=37.85, s=0.688, r^2=0.896 \text{ 및 } r=0.947) \quad (1)$$

(1)식으로부터 살충활성에 기여하는 절대값 크기 순서는 R₃-치환기(Sub₃)의 폭(B₂)과 부피(V) 및 분자의 표면적(MSA)이었으며(B₂≫V≫MSA) 살충활성의 약 90%를 설명하고있다. 또한, MSA 및 V의 기여는 매우 작았으나 R₃-치환기의 폭(B₂)이 활성에 가장 큰 영향을 미치었다. 특히, R₃-치환기

Table 1. Hydrophobicity of *N'*-phenyl-*N*-methylformamidine analogues and their observed insecticidal activity (Obs.pI₅₀) against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), and predicted activity (Pred.pI₅₀) in training set of optimized QSAR models



No	Substituents (R)				ClogP	Obs.	HQ SAR		2D-QSAR	
	1	2	3	4			Pred. ^{a)}	Δ ^{b)}	Pred. ^{c)}	Δ ^{b)}
1	H	CH ₃	CH ₃	SN(C ₄ H ₉) ₂	6.09	3.88	-	-	3.86	-0.02
2	H	F	F	SN(C ₄ H ₉) ₂	5.38	3.83	3.94	0.11	3.78	-0.05
3	F	F	F	SN(C ₄ H ₉) ₂	5.52	3.97	3.77	-0.20	-	-
4	H	F	CH ₃	SN(C ₄ H ₉) ₂	5.74	4.64	4.62	-0.02	-	-
6 ^{d)}	H	CH ₃	CH ₃	CH=N-2,4-xylyl	5.50	4.22	4.10	-0.12	4.38	0.16
7	H	F	CH ₃	SN(C ₃ H ₇) ₂	4.68	4.72	4.60	-0.12	4.56	-0.16
8	H	F	CH ₃	SN(C ₅ H ₁₁) ₂	6.80	4.06	-	-	4.12	0.06
9	F	F	F	SN(C ₃ H ₇) ₂	4.47	3.50	3.75	0.25	3.65	0.15
10	F	F	F	SN(C ₅ H ₁₁) ₂	6.58	3.68	3.72	0.04	3.80	0.12
11	H	CH ₃	F	H	2.40	3.17	3.21	0.04	3.22	0.05
12	F	F	F	C ₄ H ₉	3.46	3.46	3.44	-0.02	3.48	0.02
13	H	F	CH ₃	SNCH ₃ C ₄ H ₉	4.15	3.84	-	-	4.01	0.17
14	H	F	CH ₃	SN(C ₈ H ₁₇) ₂	4.15	4.50	4.60	0.10	-	-
15	F	F	F	SNCH ₃ C ₄ H ₉	9.97	3.70	3.61	-0.09	3.62	-0.08
16	H	CH ₃	F	SN(C ₄ H ₉) ₂	3.94	3.98	3.82	-0.16	3.82	-0.16
17	H	F	CH ₃	C ₄ H ₉	5.74	3.79	3.81	0.02	3.62	-0.17
18	OCH ₃	F	H	SN(C ₄ H ₉) ₂	3.57	4.19	4.23	0.04	4.12	-0.07
19	H	F	CH ₃	C ₃ H ₄ N	5.30	3.59	3.73	0.14	3.43	-0.16
20	H	F	CH ₃	CH ₂ CH=CH ₂	1.80	4.00	3.93	-0.07	-	-
21	H	F	CH ₃	CH ₂ C≡CH	2.84	3.58	3.68	0.10	3.57	-0.01
22	H	CH ₃	F	CH ₂ C≡CH	1.54	3.26	3.14	-0.12	3.39	0.13
Ave. ^{e)} (PRESS)							1.70	(0.23)	1.74	(0.23)

^{a)}Predicted activity by model F2., ^{b)}difference between observed and predicted activity, ^{c)}predicted activity by (1) model., ^{d)}Amitraz, ^{e)}average residual.

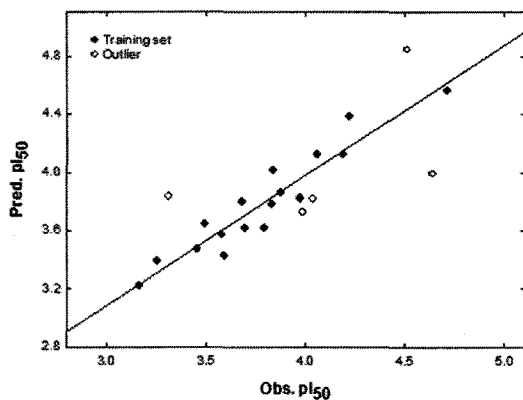


Fig. 1. Relationships between observed insecticidal activity (Obs.pI₅₀) of *N'*-phenyl-*N*-methylformamidine analogues against two spot mite and predicted insecticidal activity (Pred.pI₅₀) by 2D-QSAR model (1). (For training set: $Pred.pI_{50}=0.896Obs.pI_{50}+0.395$; $n=17$, $r^2=0.898$, $s=0.118$ & $F=131.544$).

의 부피는 작고 B₂축의 폭이 넓을수록 활성에 기여함을 시사하므로 수용체의 반응점이 비대칭성을 암시한다. Fig. 1에는 관측된 활성값(Obs.pI₅₀)과 2D-QSAR 모델(1)로 예측된 활성값(Pred.pI₅₀) 사이의 비례관계식($Pred.pI_{50}=0.896Obs.pI_{50}+0.395$; $n=17$, $r^2=0.898$, $s=0.118$ 및 $F=131.544$)으로부터 이들 두 값사이의 상관성이 양호함을 잘 설명하고 있다. (1)식에 이어 2차식으로는 R₄-치환기(Sub.₄)에 대한 (2)식이 높은 상관성은 보였으며 그 2차식은 (3)식과 같이 표기된다.

$$Obs.pI_{50} = -0.226TDM.^2Sub._4(\pm 0.038) + 0.915TDM.Sub._4(\pm 0.161) + 0.405DMY.Sub._4(\pm 0.091) + 3.158(\pm 0.144),$$

$$(n=17, s=0.890, F=14.540 \text{ 및 } r^2=0.792) \quad (2)$$

$$\text{Obs.pl}_{50} = -0.226(\text{TDM.Sub.4} - 2.025)^2 + 0.405\text{DMY.Sub.4} - 0.940 \quad (3)$$

(2)식에서 살충활성은 R₄-치환기의 Y축 성분의 쌍극자능율(DMY)보다 R₄-치환기 전체의 쌍극자능율(TDM)이 크게 기여한다. 따라서 Fig. 2에는 (3)식으로부터 TDM.Sub.4 상

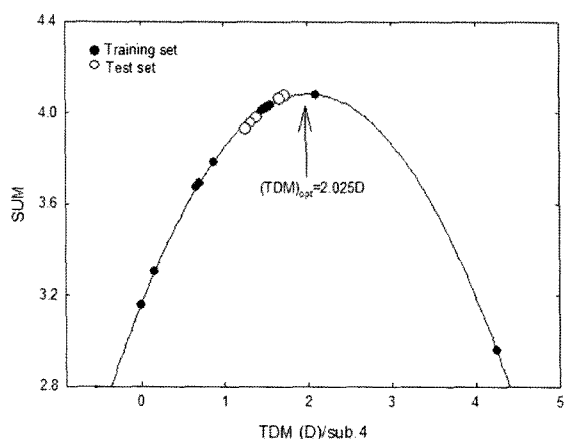


Fig. 2. Relationships between total dipole moment (TDM) of R₄-substituent and SUM by the 2D-QSAR model (3). (SUM= Obs.pl₅₀-0.405DMY.Sub.4).

수와 Sum=Obs.pl₅₀-0.405DMY.Sub.4와의 포물선 관계를 나타내었다. 이로부터 기질분자는 R₄-치환기의 TDM상수의 적정값이 (TDM)_{opt.}=2.025 D일때 최대값으로 대략 Obs.pl₅₀=4.00 이상의 높은 살충활성을 나타낼 것이나, 이 식은 살충활성의 약 80%를 설명함에 불과하며 이상의 2D-QSAR 결과로부터 살충활성은 R₃- 및 R₄-치환기에 의존적이었다.

HQSAR 모델

기질 유도체들의 치환기 변화에 따른 살충활성과 분자조각 크기 및 특징사이의 상관성 관계를 알아보기 위하여 HQSAR 모델(Heritage 등, 1999)의 PLS 분석 결과들을 Table 2에 정리하였다. 가장 양호한 통계값을 가지는 모델 F는 분자조각의 크기가 7~10 범위이고 길이는 199 bin의 조건에서 주성분의 수가 4이었다. Table 3에서는 모델 F에 기초하여 분자 조각의 특징중 연결조건에서 최적화된 양호한 모델 F2(q²=0.719 및 r²=0.930)을 얻었다. Fig. 3에는 관측된 활성값(Obs.pl₅₀)과 HQSAR 모델 F2로부터 예측된 활성값(Pred.pl₅₀)의 관계를 나타내었다. 비례관계식(Pred.pl₅₀=0.959Obs.pl₅₀+0.013, n=15, s=0.082, F=320.212, r²=0.961 및 q²=0.947)으로부터 모델 F2의 상관성이 양호함을 시사하였다. 2D-QSAR(1) 및

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

Model No.	Best length		PLS analyses				
	Fragment size	Hologram (bin)	r ² _{cv.} (q ²)	SE _{cv.}	r ² _{ncv.}	SE _{ncv.}	NC
A	2-5	151	0.633	0.309	0.874	0.181	4
B	3-6	151	0.672	0.292	0.878	0.178	4
C	4-7	53	0.687	0.285	0.894	0.166	4
D	5-8	71	0.712	0.254	0.812	0.206	2
E	6-9	53	0.751	0.245	0.879	0.171	3
F ^{a)}	7-10	199	0.719	0.270	0.930	0.134	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)

Model No.	Best length		PLS analyses				
	Fragment distinctions	Hologram (bin)	r ² _{cv.} (q ²)	SE _{cv.}	r ² _{ncv.}	SE _{ncv.}	NC
F1	Atom/bond	257	0.693	0.282	0.916	0.147	4
F2 ^{a)}	Connectivity	199	0.719	0.270	0.930	0.134	4
F3	Hydrogen atom (H)	83	0.413	0.391	0.859	0.192	4
F4	Connectivity-H	307	0.457	0.375	0.881	0.176	4
F5	Chirality	307	0.464	0.373	0.882	0.175	4

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

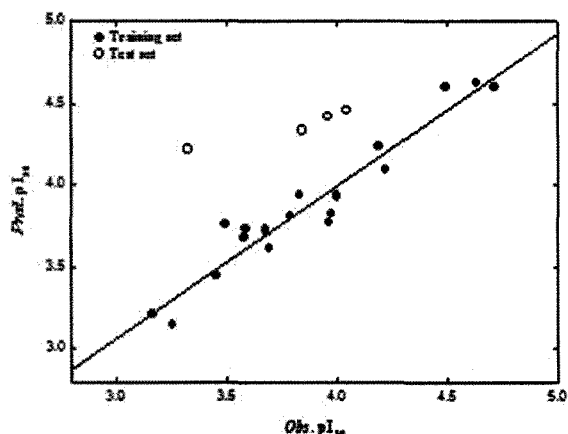


Fig. 3. Relationships between observed inhibition activity (Obs.pI₅₀) and predicted inhibition activity (Pred.pI₅₀) by optimized HQSAR model. (For training set: $Pred.pI_{50}=0.959Obs.pI_{50}+0.013$; $n=15$, $s=0.082$, $F=320.212$, $r^2=0.961$ & $q^2=0.947$).

Table 4. Predicted activity (Pred.pI₅₀), difference between observed and predicted activity, and error (Ave.^{a)} & PRESS^{b)} for test set of optimized QSAR models

No	HQ SAR		2D-QSAR	
	Pred. ^{c)}	Δ ^{d)}	Pred. ^{e)}	Δ ^{d)}
1	4.39	0.51	-	-
3	-	-	3.74	-0.23
4	-	-	3.96	-0.68
5 ^{f)}	4.43	1.10	3.85	0.52
8	4.57	0.51	-	-
13	4.44	0.60	-	-
14	-	-	4.84	0.34
20	-	-	3.83	-0.17
	2.73 ^{a)}	2.11 ^{b)}	2.94 ^{a)}	0.93 ^{b)}

^{a)}Average residual, ^{c)}predicted activity by model F2, ^{d)}difference between the two activity, ^{e)}predicted activity by (1) model, ^{f)}R₁=H, R₂=F, R₃=CH₃, R₄=SN(C₂H₅)₂, ClogP=3.62 & Obs.pI₅₀=3.33.

HQSAR 모델 F2를 유도하는데 이용한 training set(Table 1)과 제외되었던 예측성 목적의 test set(Table 4)에 대한 오차(Ave. 및 PRESS)로부터 두 모델 모두가 비슷한 경향으로 test set에 기초한 예측성보다는 상관성이 큰 모델이었다.

고활성 화합물의 설계

HQSAR 모델 F2와 2D-QSAR(1-3)모델의 정보에 따라서 Table 5에는 Amitraz(6)를 위시하여 설계된 화합물(P1-P4)들의 TDM 상수와 소수성상수 및 예측된 살충활성값(Pred.pI₅₀)을 정리한 결과, 가장 높은 활성이 예측되는 화합물은 P1 (Pred.pI₅₀=5.90)이었다. 또한, Amitraz 중 R₄-치환기의 TDM 상수(6; TDM.=2.11D) 뿐만 아니라, 설계된 화합물의 TDM 상수가 2D-QSAR 모델(3)로 구한 적정값(TDM)_{opt.}=2.025D)에 근접한 값들($u=1.41-2.11D$)을 나타내었고 소수성 상수들도 대부분 측정된 소수성값의 분포범위(logP=0.0-5.50) 안에 포함되어 있다. 특히, 설계된 화합물, P1(EC₅₀=0.516 ppm)은 Amitraz(EC₅₀=17.70 ppm)에 비하여 약 34.3배 큰 살충활성을 나타낼 것으로 예측되었고 최적화된 HQSAR 모델 F2의 상관성($r^2_{ncv.}=0.930$)에 근거하여 이론적으로 이러한 상대적인 살충활성의 적중확률은 93%에 이를것으로 기대된다.

한편, Fig. 4에는 살충활성에 미치는 구조상 치환기별 특이성을 시각적으로 분석하기 위하여 다루어진 화합물 중에서 내부 표준물질인 Amitraz(6)와 설계된 화합물중 가장 높은 활성을 보이는 화합물(P1)에 대한 기여도를 색깔로 구분하여 나타내었다. N'-phenyl-N-methylformamide 유도체(1-22) 중에서 2D-QSAR 모델로부터 알게된 활성에 영향을 크게 미치는 치환기(R₃ 및 R₄)를 위시하여 변화시킨 치환기(R₁-R₄) 부분들은 모두 회색을 나타내어 중간정도의 살충활성에 기여하였고 N 원자와 결합되는 R₄-치환기는 S-치환체가 높은 활성을 나타내는 경우가 많았다. 특히, Amitraz(6)의 R₄-치환

Table 5. Predicted insecticidal activity and hydrophobicity of designed N'-phenyl-N-methylformamide analogues by the optimized HQSAR model, and total dipole moment (TDM)

No. ^{a)}	Substituents (R)				TDM ^{b)}	ClogP	Activity (pI ₅₀)		
	1	2	3	4			Pred.	EC ₅₀ ^{c)}	Rel. ^{d)}
P1	NH-Me	NO ₂	i-Pr	S-N(i-Bu) ₂	2.11	6.152	5.90	0.516	34.3
P2	NH-Me	NO ₂	i-Pr	S-(1,4-dimethyl-piperidinyl)	1.41	5.125	5.74	0.665	26.6
P3	N-diMe	OCH ₃	Me	S-piperidinyl	1.41	4.495	5.19	2.173	8.1
P4	Me	OH	Me	S-N(i-Bu) ₂	2.11	6.166	4.99	3.454	5.1
Amitraz	H	Me	Me	CH=N-2,4-xylyl	2.04	5.502	4.22	17.70	1.0

^{a)}Entry number with order of relative activity, ^{b)}value of R₄-substituent, ^{c)}convert pI₅₀ values into EC₅₀ (ppm), ^{d)}relative insecticidal activity ratio to Amitraz (EC₅₀=17.7 ppm).

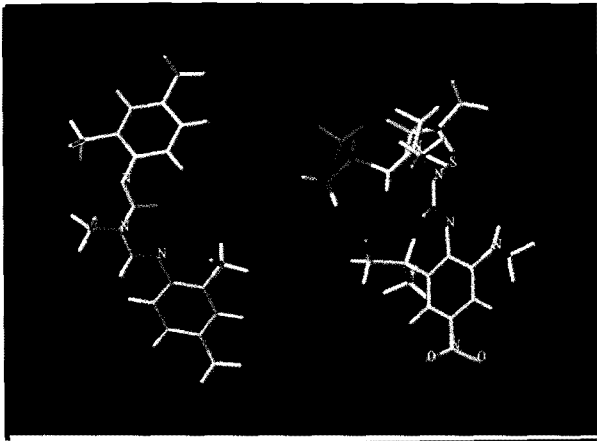


Fig. 4. HQSAR contribution maps displayed with Amitraz (Left; 6) and designed compound (Right; P1). (Contribution colors; Green: greatest, cyan: great, yellow: moderate, gray: average).

기도 살충활성에 기여정도가 중간수준에 머물러있었다. 설계된 화합물(P1-P4)에서는 파란색(cyan)을 띄는 기질분자의 골격보다 푸른색(green)을 나타내는 R₄-치환기들이 살충활성에 더욱 기여함을 확인할 수 있었다. 이같은 사실은 설계된 화합물들이 두 모델(2D-QSAR(1) 및 HQSAR모델 F2)의 정보와 일치되는 결과임을 잘 설명하고 있다. 그러므로 살충활성을 더욱 개선하려면 R₃-치환기는 입체적으로 약간 큰 치환기(B₂)를 도입하되 R₄-치환기의 TDM 적정값(TDM)_{opt.}=2.025를 유지할 수 있도록 하여야 한다. 뿐 만아니라, 치환기들에 대한 정전기장, 입체장, 소수성장을 이해하기 위한 비교분자장분석(CoMFA)은 물론, 수용체(octopamine)와의 결합성에 큰 영향을 미치는 기질분자들의 수소결합 주계장 및 받게장에 관한 비교분자유사성 지수분석(CoMSIA) 등의 3차원적인 정량적 구조-활성관계(3D-QSAR)(Akamatsu, 2002)에 따른 분자설계가 구체적으로 시도되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 재원으로 한국연구재단(NRF) 우수연구센터(ERC) 지원을 받아(No. 2010-0001351) 수행되었습니다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Akamatsu, M. (2002) Current state and perspectives of 3D-QSAR. *Curr. Topics Med. Chem.* 2:1381~1394.

- Aziz, A. S. and Knowles, C. O. (1973) Inhibition of monoamine oxidase by the pesticide Chlordimeform and related compounds. *Nature*, 242:417~418.
- Booth, T. F. (1989) Effects of biogenic amines and adrenergic drugs on oviposition in the cattle tick *Boophilus*: Evidence for octopaminergic innervation of the oviduct. *Exp. & Appl. Acarology*, 7:259~266.
- Divito, C. B., Davis, S., Masoudi, S. and Muhoro, C. N. (2007) Relative stability of formamidine and carbamate groups in the bifunctional pesticide formetanate hydrochloride. *J. Agric. Food Chem.* 55:5377~5382.
- Evan, P.D. and Gee, J. D. (1980) Action of formamidine pesticides on octopamine receptors. *Nature*. 287:60~62.
- Fujita, T. (1995) Quantitative structure-activity analysis and database-aided bioisosteric structural transformation procedure as methodologies of agrochemical design. (ed. Hansch, C and Fujita, T.), pp. 13-35, ACS Symposium Series, No. 606, ACS, Washington, DC.
- GraphPad software, Inc., 2236 Avenida de la Playa, La Jolla, CA 92037, U.S.A., <http://www.graphpad.com/prism/>
- Hafelinger, G. (1975) General and theoretical aspects of amidines and imidic acid derivatives. In *The chemistry of amidine and imidates*. (ed. Patai, S.) John Wiley & Sons, London. Ch. 1.
- Hanch, C. (1976) The structure of medicinal chemistry. *J. Med. Chem.*, 19:1~6.
- Harrison, I. R., Kozlik, A., McCarthy, J. F., Palmer, B. H., Wakerley, S. B., Watkins, T. I. and Weighton, D. M. (1972) 1,5-Bis(2,4-dimethylphenyl)-3-methyl-1,3,5-triazapenta-1,4-diene, a new acaricide active against strains of mites resistant to organophosphorus and bridged diphenyl compounds. *Pestic. Sci.*, 3:679~680.
- Heritage, T. W. and D. R. Lewis (1999) Molecular hologram QSAR., In *Rational drug design: Novel Methodology and practical Applications* (ed. Parrill, A. L. and Reddy, M. R.), pp. 212-225., ACS Symposium Series, No. 719, ACS, Washington, DC.
- Hollingworth, R. M. (1976) Chemistry, biological activity, and uses of formamidine pesticides. *Environ. Health. Perspect.* 14:57~69.
- Hollingworth, R. M. and Murdock, L. L. (1979) Octopamine receptors, adenosine 3',5'-monophosphate, and neural control of firefly flashing. *Science*. 203:65~68.
- Jang, S. C. and Sung, N. D. (2007) Molecular holographic QSAR analysis on the bonding affinity constants between nicotin acetylcholine receptors and new 3-benzylidenemyosmine analogues and molecular design. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 50:127~131.
- Lee, D. K. (2007) Synthesis of formamidine and 1,3,5-triazapenta-1,4-diene derivatives and their biological activities. Thesis of Master's Degree, Korea University.
- Lund, A. E., Hollingworth, R. M. and Sharnkland, D. L. (1979) Chlordimeform: Plant protection by a sublethal, noncholinergic

- action on the central nervous system. *Pest Biochem. physol.* 11:117~128.
- Murdock, L. L. and Hollingworth, R. M. (1980) Octopamine-like actions of formamidines in the firefly light organ. *Insect neurobiology and pesticide action*, Soc. Chem. Ind., London, pp. 415~422.
- SAS (2002) *Statistic & Analysis Software on CD-ROM* (Ver. 9.2), SAS Institute Inc., Cary, NC, 27513, USA.
- Soung, M. G., Kim, S. G. and Sung, N. D. (2007) 3D-QSAR analysis on the insecticidal activities of N-substituents on imidazol ring in Imidacloprid analogues. *Korean J. Pesticide Sci.*, 11:131~137.
- Soung, M. G., Kil, M. J. and Sung, N. D. (2009) Structural characteristics that influence on the insecticidal activity of 2-(n-octyl)pseudothiourea analogues against the Diamondback moth (*Plutella xylostella*, L.). *Bull. Korean Chem. Soc.* 30:2749~2753.
- Stahle, L. and S. Wold (1988) Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research, *Progr. Med. Chem.* 25:292~338.
- Sung, N. D., Kang, M. S., Jang, H. S. and Kim, D. W. (1996) Influence of 3-N-substituents (R) on the insecticidal activities of imidacloprid and its analogues. *Agric. Chem. & Biotech.* 39:140~146.
- Sung, N. D., Yu, S. J. and Kang, M. S. (1997) Kinetics and mechanism of hydrolysis insecticidal imidacloprid. *Agric. Chem. & Biotech.* 40:53~57.
- Sung, N. D. (2002) Development of new agrochemicals by quantitative structure activity relationship (QSAR) methodology; II. The linear free energy relationship (LFER) and descriptors. *Korean J. Pesticide Sci.* 6:231~243.
- Sung, N. D. (2003) The range of physicochemical parameters for the active ingredients of fungicide and insecticide as crop protection agents. *J. Korean Soc. Agri. Chem. Biotech.* 46:280~284.
- Sung, N. D., Jang, S. C. and Choi, K. S. (2006) CoMFA and CoMSIA on the neuroblocking activity of 1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-2-nitroiminoimidazole analogues, *Bull. Korean Chem. Soc.* 27:1741~1746.
- Tripos, Sybyl (2010) *Molecular Modeling and QSAR Software on CD-ROM* (Ver. 8.1), Tripos Associates Inc., 1699 S. Hanley Rd. Suite 303, St. Louis, MO. 63144-2913, U.S.A.
- TSAR (2000) *Proprietary Software* (Ver. 3.3), Accelrys Inc., 10188 Telesis Court, Suite 100, San Diego, CA. 92121, U.S.A.

두 점박이 응애(*Tetranychus urticae*)에 대한 *N'*-phenyl-*N*-methylformamide 유도체의 살충활성과 새로운 고활성 화합물들의 설계

이재황 · 최원석 · 이동국¹ · 정근희¹ · 고영관² · 김태준³ · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학과, ¹목우연구소(주), ²한국화학연구원 바이오소재연구센터, ³(주)동부한농 동부기술원

요 약 새로운 고활성의 살충성 화합물을 예측하고 설계하기 위하여 *N'*-phenyl-*N*-methylformamide 유도체들의 두점박이 응애(*Tetranychus urticae*)에 대한 살충활성과 물리-화학적인 설명인자들 사이의 2차원적인 정량적 구조-활성관계(2D-QSAR)와 분자 홀로그래피적인 정량적 구조-활성관계(HQSAR)를 구체적으로 검토하였다. 2D-QSAR 모델(1 및 3)로부터 입체적인 요소로서 R₃-치환기의 폭(B₂)과 R₄-치환기의 적정한 전체 쌍극자능을값(TDM=2.025 D)이 살충활성에 주로 영향을 미쳤으며 살충활성은 R₃- 및 R₄-치환기들에 의존적이었다. 특히, 2D-QSAR 모델(3)과 HQSAR 모델 F2에 의하여 설계된 새로운 유력한 활성화합물(P1; EC₅₀=0.516 ppm)의 살충활성은 Amitraz에 비하여 약 34.3배 높을 것으로 예측되었다.

색인어 2D-QSAR 및 HQSAR, 살충활성, *N'*-phenyl-*N*-methylformamide 유도체, 두점박이 응애(*Tetranychus urticae*)