

Lysyl Hydroxylase의 저해활성을 증가시키기 위한 Minoxidil 유도체들의 구조적인 요건

명평근¹, 성낙도², 이재흥^{3*}

Structural Requirements of Minoxidil Analogs for Enhancing Lysyl Hydroxylase Inhibitory Activity

Pyung-Keun Myung¹, Nack-Do Sung², and Jae-Heung Lee^{3*}

접수: 2011년 10월 21일 / 게재승인: 2012년 1월 17일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In order to explore structural features of minoxidil analogs with a view of enhancing lysyl hydroxylase (LH) inhibitory activity, molecular holographic QSAR (HQSAR) and CoMSIA (comparative molecular similarity indices analysis) were performed. The results from the atomic contributions with optimized the HQSAR 6-2 model indicated that, in case of pyrimidine-1-*N*-oxide substituent, C2 atom of pyrimidine ring and C'3-C'4 bond of 4-piperidinol group showed the highest impact on the inhibitory activity towards LH enzyme. It was also evident from the information of the optimized CoMSIA F5 model that the inhibitory activity mainly depended on the hydrophobic field contribution (36%) and the hydrogen bond (H-bond) field contribution (49.2%) of substrate molecule. Particularly, it is predicted that the functional groups which disfavor H-bond acceptors in large space around the piperidinol group and also the functional groups which favor the H-bond acceptors at C'4 (& C'5) atom

in R₅ group play a role for increased inhibitory activity. With this in mind, it is likely that a novel candidate having more improved inhibitory activity on hair growth could be designed in the future.

Keywords: Minoxidil analogs, HQSAR, CoMSIA, Lysyl hydroxylase, Hair growth agent

1. 서론

Minoxidil은 고혈압 치료제로 개발된 혈관 확장제로서 사용 중 부작용으로 발모작용이 입증된 화합물이다 [1]. 20년 이상 Minoxidil의 발모효과에 대하여 많은 연구가 이루어졌으나 어떤 메커니즘으로 발모효과를 나타내는지 규명이 미흡한 실정이다. 이런 의미에서 Minoxidil의 발모 메커니즘을 밝히는 연구는 효과적인 탈모 치료법을 개발하는 차원에서 중요할 뿐 아니라, 생물학적으로 발모에 관한 이해를 높일 수 있다는 측면에서도 또한 중요하다. Minoxidil과 더불어 현재 FDA에 승인된 두 종류의 발모제 중에서 가장 널리 쓰이는 Finasteride (상품명; Propecia[®])는 Minoxidil과는 다르게 5 α -reductase의 활성을 억제하여 dihydrotestosterone의 생성을 차단함으로써 발모를 유발한다고 알려졌다 [2]. Minoxidil은 체내에서 sulpho-transferase의 촉매작용으로 빠르게 Minoxidil sulphate로 전환됨으로서 vascular smooth muscle의 빠른 이완작용을 유발하여 혈압강하의 효과를 유발한다고 보고되었다 [3]. Minoxidil 이외에 다른 potassium channel opener를 대상으로 한 발모실험 [4]에서 Cromakalin 및 P-1075

¹충남대학교 약학대학

¹College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

²충남대학교 농업생명과학대학

²College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

³한국기술교육대학교 기계정보공학부

³School of Mechanical Engineering, Korea University of Technology and Education, Cheonan 330-708, Korea

Tel: +82-41-560-1249, Fax: +82-41-560-1253

e-mail: jaeheung@kut.ac.kr

(Pinacidil analog)도 발모효과가 입증되어 potassium channel 이 발모효과에 중요한 표적으로 인식되었다. 그러나 근래에 Minoxidil에 대한 연구가 다양하게 이루어지면서 potassium channel opener 뿐만 아니라, 세포기능에 다양한 효과를 보인다고 밝혀졌다.

현재까지 Minoxidil은 상피세포와 섬유아세포의 성장을 자극하거나 lysyl hydroxylase (LH)저해, 콜라겐 생성저해, prostaglandin E₂ (PGE₂) 합성을 자극하여 prostacyclin의 생산저해 및 피부돌기 세포에 의한 VEGF (vascular endothelial growth factor)의 합성을 자극하는 것으로 알려졌다 [5]. 이와 같이 세포기능에 다양한 영향을 미치고 있으나 어떤 표적을 통하여 발모에 영향을 미치는지에 대한 연구는 부족한 실정이다. 보통 콜라겐 생합성은 복합적인 전사 후 가공과정을 거쳐 triple helix 구조를 이루어 구조적 안정성을 갖는데 [6], 이런 과정에서 LH는 lysine의 hydroxylation을 촉매하여 콜라겐 분자의 안정성을 갖게 한다 [7]. 즉, hydroxylysine 분자들은 콜라겐 원섬유 (collagen fibril)에서 분자들 사이에 교차결합을 이루게 하여 구조적으로 안정한 콜라겐 분자를 만들게 한다 [8]. 그러나 hydroxylysine이 지나치게 많아지면 콜라겐 분자가 과도하게 생성되거나, 콜라겐 분자의 가수분해가 불가능하게 되어 섬유증 (fibrosis) 질병을 초래한다 [9]. 실제로 남성형 탈모증 병변의 많은 경우에 모낭세포 주위에 과도한 섬유화가 관찰되고 있다. Minoxidil 유도체인 2,4-diaminopyrimidine-3-oxide도 강한 anti-LH 활성으로 모낭세포의 섬유화를 막는다는 점에 착안하여 현재 Aminexil®이라는 제품이 유럽시장에 상용화되고 있다 [10]. Minoxidil도 역시 LH의 활성을 억제하여 섬유화를 막는다는 사실 [11,12]이 다양한 *in vitro* 실험에서 증명되었다. 최근에는 Minoxidil-LH 상호작용에 미치는 비교분자장분석 (CoMFA: comparative molecular field analysis) 결과를 검토한 바 있었다 [13].

본 연구에서는 기질분자로서 Minoxidil이 LH 활성을 억제한다는 점을 표적으로 하는 새로운 모발 성장제의 구조적인 특성과 효소-기질사이의 상호작용에 관한 수소결합성을 탐색하기 위하여, Minoxidil 유도체들의 human LH [14] 저해 활성에 관한 정량적 구조와 활성과의 관계 (QSARs) [15]를 molecular holographic QSAR (HQSAR) [16] 및 비교분자 유사성 지수분석 (CoMSIA: comparative molecular similarity indices analysis) [17] 방법으로 각각 실행하고 그 결과를 검토하였다.

2. 재료 및 방법

Minoxidil의 수용체로서 LH (EC 1.14.11.4)의 X-ray 결정구조 (Fig. 1)는 protein data bank (PDB code; 3K2O)에서 구하였으며 가운데 회색부분의 반응점은 그 부피가 대략 43 Å³이었다. 그리고 HQSAR 및 CoMSIA 모델을 유도하기 위한 분자 모델링과 부분최소자승 (PLS; partial least square) 분석은 Sybyl (Ver. 8.1) 프로그램 (Tripos Inc.)으로 이루어졌다 [18]. Human LH [14]에 대한 기질 분자로서 Minoxidil 유도체 (compound 1-15)들의 치환체 별로 관측된 저해

활성 (Obs.In)은 문헌값을 이용하였다 [19,20]. 3D-QSAR 모델을 유도하기 위한 3차원 공간상 분자정렬은 Minoxidil (compound 1)분자를 기본 분자들 (template)로 정하고 atom based fit (A)와 field fit (F) 방법으로 각각 정렬시켰으며, 이하 모델의 유도방법은 전보와 같다 [21]. 최적화 모델은 예측성 q²값 (r²_{cv.})이 0.50 이상, 그리고 상관성이 r²_{ncv.} = 0.90 이상이어야 한다. 최적화 HQSAR 모델들을 유도하기 위하여 홀로그래프 길이를 53~500 bin으로 하고 분자 조각의 수를 2~10으로 넓게 선택한 후, 다양한 분자 조각 특성들을 조합하여 최적화 된 HQSAR 모델을 유도 하였다 [16]. Training set에 대한 최적화된 모델들의 계산된 오차 (error)로서 관측값과 예측값의 평균 차이값 (Ave.: average residual of training set) 및 관측값과 예측값 사이 제곱편차의 합에 관한 PRESS (predictive residual sum of squares)값들을 계산하였으며 이 값들은 작을수록 양호한 모델임을 의미한다. 또한, 기질분자의 구조상 저해활성에 영향을 미치는 부분을 이해하기 위하여 최적화된 CoMSIA 모델이 갖고 있는 특성장에 관한 정보는 색깔로 암호화 된 등고도 (contour map)로 나타내었고 그 비율 (Stdev * coeff.)은 favor; 80% 및 disfavor; 20%이었다. 또한, HQSAR 모델의 경우에 기여 정도 (contribution levels)에 관한 정보는 분자 구조의 특정한 원자나 결합에 암호화 된 기여도를 색깔로 각각 나타내었다.

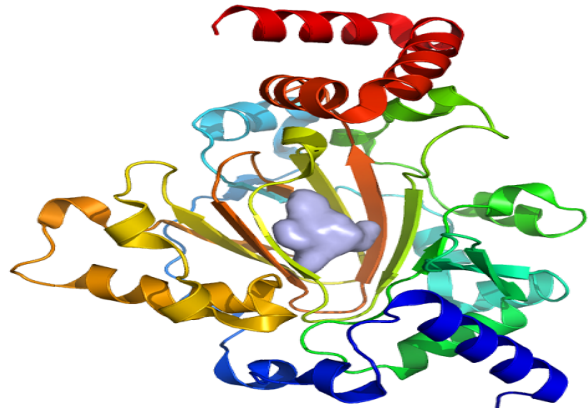
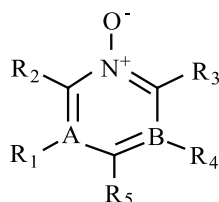


Fig. 1. The overall structure of lysyl hydroxylase (3K2O).

3. 결과 및 고찰

3.1. HQSAR 모델

HQSAR 기법은 화합물의 2차원 구조상 특징들과 생물활성 사이의 예측관계를 PLS 방법으로 분석하는 방법이다 [22]. 자료 중 분자들은 일련의 구조적인 조각 (fragment: bin)인 분자의 조성과 위상학적인 정보를 함축하고 있는 구조적인 변수로 나뉘어져 분자 홀로그래프의 형태로 정돈되어 CRC (cyclic redundancy check) 연산에 이용된다 [23]. Table 1에는 human LH [14]에 대한 Minoxidil 유도체 (1-15)의 관측된 저해활성값 (Obs.In), 최적화 모델에 의하여 예측된 저해활성값 (Pred.In) 및 그들 두 값의 차이값 (Δ In), 등을 요약하였다. 그리고 저해활성에 미치는 분자의 구조적인 특성

Table 1. The observed inhibitory activity (Obs.In) of minoxidil analogues against lysyl hydroxylase and predicted inhibitory activity (Pred.In) by the optimized QSAR models

No.	Atom or Substituent							Obs (%)	Obs.In	HQSAR		CoMSIA	
	A	B	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅			Pred.In	$\Delta \ln^a$	Pred.In	$\Delta \ln^a$
1 ^{b)}	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	Piperidinyl	27	0.73	0.68	0.05	0.60	0.13
2	C	C	H	NH ₂	NH ₂	H	Piperidinyl	25	0.75	0.72	0.03	0.75	0.00
3	N	N	-	NH ₂	NH ₂	-	Piperidinyl	41	0.59	0.64	0.05	0.69	-0.10
4	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	<i>N,N</i> -diethyl	49	0.51	0.55	0.04	0.62	-0.11
5	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	<i>N</i> -ethyl	107	-0.07	0.05	0.12	-0.09	0.02
6	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	<i>N</i> -butyl	100	0.00	0.03	0.03	-0.04	0.04
7	C	C	H	H	H	H	Phenyl	99	0.01	-0.01	0.02	0.04	-0.03
8	C	C	H	H	H	H	Carboxyl	90	0.10	-0.03	0.13	0.07	0.03
9	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	3-Piperidinol	24	0.76	0.80	0.04	0.66	0.10
10	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	4-Piperidinol	23	0.77	0.77	0.00	0.79	-0.02
11	C	N	H	CH ₃	CH ₃	-	Piperidinyl	111	-0.11	-0.06	0.05	-0.06	-0.05
12	C	N	NO ₂	CH ₃	NH ₂	-	Piperidinyl	34	0.66	0.60	0.06	0.65	0.01
13	C	N	H	CH ₃	NH ₂	-	Pyrrolidinyl	88	0.12	0.10	0.02	0.11	0.01
14	C	N	H	CH ₃	NH ₂	-	Morpholinyl	91	0.09	0.08	0.01	0.01	0.08
15	C	N	H	NH ₂	NH ₂	-	<i>N</i> -Methylpiperazinyl	109	-0.09	-0.10	0.01	0.03	-0.12

^{a)} Difference between the observed inhibitory activity and the predicted inhibitory activity by the optimized HQSAR 6-2 model or CoMSIA F5 model.

^{b)} Minoxidil.

Table 2. HQSAR analysis 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) ^{a)}	SE _{cv.} ^{b)}	$r^2_{ncv.}$ ^{c)}	SE _{ncv.} ^{d)}	NC ^{e)}
1	2-5	353	0.385	0.353	0.978	0.067	5
2	3-6	401	0.430	0.322	0.984	0.055	4
3	4-7	71	0.464	0.298	0.901	0.128	3
4	5-8	71	0.462	0.313	0.965	0.079	4
5	6-9	307	0.385	0.334	0.984	0.053	4
6 ^{f)}	7-10	53	0.421	0.309	0.983	0.101	3

$r^2_{cv.}$ ^{a)}: cross-validated r^2 .

$r^2_{ncv.}$ ^{c)}: non-cross-validated r^2 .

NC^{e)}: number of components.

SE_{cv.} ^{b)}: cross-validated standard error.

SE_{ncv.} ^{d)}: non-cross-validated standard error.

6^{f)}: optimized model.

을 탐색하고자 Table 1의 training set (n=15) 화합물을 대상으로 상관성이 양호한 최적화된 HQSAR 및 CoMSIA 모델들을 각각 유도하고 그에 따른 다양한 통계값들을 계산하였다. Table 1에 기초하여 Table 2 및 3에는 다양한 분자 조각 수의 범위에서 계산된 HQSAR 모델들의 통계 결과를 정리하였다. 먼저, Table 2에는 조각 크기 7-10, 홀로그램 길이 53 bin 및 주성분수 3의 조건에서 유도된 6번 모델의 통계값 ($r^2_{ncv.}$ = 0.983 및 $r^2_{cv.}$ = 0.421)이 가장 좋았다. 왜냐하면, 예측성 ($r^2_{cv.}$)은 낮았으나 다른 모델에 비하여 상관성 ($r^2_{ncv.}$)이 크고 표준오차 (SE_{cv.} 및 SE_{ncv.})가 낮을 뿐 아니라, 성분수 (NC)가 작은 조건에서 유도되므로서 전체적으로 통계값이 양호하였기 때문이다. 그리고 Table 3에는 조각 크기 7-10의

조건에서 atomic numbers, bond types, atomic connections, hydrogens 및 chirality, 등의 fragment parameter를 변화시켜 계산한 결과를 요약하였다. 자료에 따르면, 최적화된 HQSAR 6-2번 모델은 결합길이의 조각특성으로 수소원자, 홀로그램 길이 61 bin의 조건에서 예측성 ($r^2_{cv.}$ = 0.591)과 상관성 ($r^2_{ncv.}$ = 0.973)이 가장 양호하였다. 또한, Fig. 2에는 HQSAR 6-2번 모델에 의한 예측된 저해활성과 관측된 저해활성과의 관계를 나타내었다. 관계식 (Pred.In = 0.965Obs.In + 0.127; n = 15, s = 0.071, F = 300.917, r^2 = 0.965 및 q^2 = 0.951)으로부터 두 값들 사이에 상관성이 매우 양호하였으므로 6-2번 모델이 human LH [13]에 대한 Minoxidil 유도체 (1-15)의 저해활성을 가장 잘 설명함을 알 수 있다.

Table 3. HQSAR analysis 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
6	Connectivity	53	0.421	0.309	0.983	0.101	3
6-1	Atom/bond	353	0.408	0.313	0.950	0.091	3
6-2 ^{a)}	Hydrogen atom	61	0.591	0.273	0.973	0.071	4
6-3	Connectivity-Hydrogen	151	0.298	0.357	0.942	0.103	4
6-4	Chirality	151	0.325	0.350	0.942	0.103	4

6-2^{a)}: optimized model.

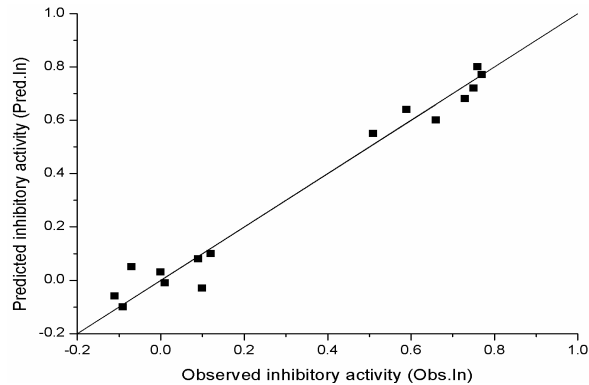


Fig. 2. A relationship between the observed lysyl hydroxylase inhibitory activities (Obs.In) for 15 minoxidil analogs and the predicted inhibitory activities (Pred.In) from the optimized HQSAR 6-2 model. (Pred.In = 0.965 Obs.In + 0.127; n = 15, s = 0.071, F = 300.917, $r^2 = 0.965$ & $q^2 = 0.951$).

3.2. HQSAR 기여도

Fig. 3에는 최적화된 HQSAR 6-2번 모델이 함축하고 있는 LH에 대한 Minoxidil 유도체 (1-15)들의 저해활성에 관한 정보를 분석하기 위하여 기여도를 제시하였다. 기여정도를 비교하기 위하여 왼편에는 가장 높은 저해활성을 나타낸 $R_5 = 4$ -piperidinol 치환체 (compound 10), 그리고 오른편에는 가장 낮은 저해활성을 보인 $R_5 = N$ -methylpiperazinyl 치환체 (compound 15)의 구조상에 기여도의 수준을 다양한 색으로 구분하여 나타내었다. 즉, 색에 따라서 녹색은 가장 높은 기여, 청록색은 높은 기여, 노란색은 중간정도의 기여, 그리고 회색은 평균정도의 기여, 오렌지 색은 낮은 기여를, 그리고 붉은색은 가장 낮은 기여도를 각각 의미한다. 특이한 점은 piperidinol group의 기여정도에 따라 pyrimidine-1-N-oxide group이 일정한 조성의 구조인데도 불구하고 기여정도가 다르게 나타난다는 사실이다. 즉, 왼편 $R_5 = 4$ -piperidinol group의 C'3-C'4결합, 그리고 C2원자 골격 부분들이 저해활성에 가장 높은 기여도를 나타내고 있다. 또한, C'4-OH와 C2-NH₂ 부분도 중간 기여도를, 그리고 나머지 부분은 평균 정도의 기여정도를 각 각 나타낸다. 그러나 오른편 $R_5 = N$ -methylpiperazinyl group의 C'2 및 C'5원자에 결합된 수소원자 중 한 부분은 가장 낮은 기여를, 그리고 N-methyl group 부분은 저해활성에 기여하지 않는 성질이 매우 크게 나타났으며 나머지 부분들은 중간 정도의 저해활성에 기여함을 나타내었다. 이러한 차이점이 Δ Obs.In = 0.86 정도의 매우 큰 저해활성을 유발하고 있음을 잘 설명하고 있다.

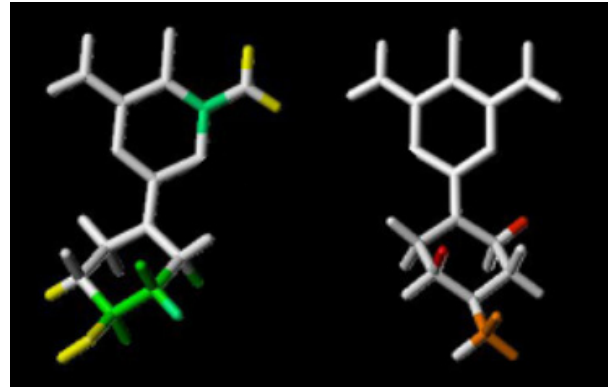


Fig. 3. Atomic contributions to the lysyl hydroxylase inhibitory activity of minoxidil analogs (1-15). The most potent molecule (left; compound 10) and the lowest potent molecule (right; compound 15) are shown with capped sticks. (contribution levels: green, highest; cyan, higher; yellow, moderate; gray, average; orange, lower and red, lowest).

3.3. CoMSIA 모델

비교분자장분석 (CoMFA: comparative molecular field analysis) 프로그램에서는 3차원 공간상에 일정한 간격으로 놓여있는 각 원자의 입체장, 정전기장 및 소수성장, 등 3개의 특성장으로 표현된다. 그러나 CoMSIA에서는 5개의 특성장 즉, CoMFA의 입체장은 CoMSIA에서 입체장 (S: steric field) 과 소수성장 (Hy: hydrophobic field)으로, 그리고 CoMFA의 정전기장은 CoMSIA에서 정전기장 (E: electrostatic field) 뿐 아니라, 수소결합 주개장 (HD: hydrogen bond donor field) 및 수소결합 받개장 (HA: hydrogen bond acceptor field), 등으로 각각 표현된다 [17]. 이와같이 Minoxidil-LH 상호작용에 미치는 수소결합성을 탐색하기 위하여, Grid (Å), attenuation factor (α) 및 주성분수 (CN)의 변화, 그리고 3차원 공간상에 두 정렬방법 (atom fit 및 field fit)과 특성장의 조합에 따르는 수많은 CoMSIA 모델을 유도한 결과, Field fit 정렬조건에서 유도된 CoMSIA 모델들의 통계값이 양호하였다. 여기에서 attenuation factor (α)는 분자내 원자들과 탐침원자 (probe atom)들 사이의 거리에 의존성인 α 와 주성분 수와의 관계를 나타내는 값이다. 따라서 Table 4에는 유도된 CoMSIA 모델들 (F1-F5)의 통계값을 요약하였다. 이 중 에서 통계적으로 가장 양호한 최적화된 모델은 grid 2.0Å, attenuation factor ($\alpha = 0.3$), 주성분수 4 및 5개의 특성장이 모두 포함된 조건에서 유도된 CoMSIA F5모델 ($r^2_{cv.} = 0.515$ 및 $r^2_{ncv.} = 0.959$)이었다. 전보 [13]에서 최적화된 CoMFA 모델

Table 4. Summary of the statistical parameters and field contribution of CoMSIA models with field fit (F) alignments

No.	PLS Analyses						Contribution ratio (%)				
	Grid (Å)	NC	r^2_{cv}	r^2_{ncv}	SE _{ncv}	Fr ^{a)}	S ^{b)}	E ^{c)}	Hy ^{d)}	HD ^{e)}	HA ^{f)}
F1	1.0	3	0.576	0.852	0.157	21.036	-	-	100.0	-	-
F2	3.0	3	0.486	0.746	0.205	10.771	-	-	-	56.5	43.5
F3	2.0	3	0.511	0.891	0.135	29.822	10.2	-	54.7	-	35.1
F4	2.5	5	0.367	0.946	0.104	31.713	21.3	9.1	69.6	-	-
F5 ^{g)}	2.0	4	0.515	0.959	0.086	58.629	9.0	5.8	36.0	22.9	26.3

Fr^{a)}: fraction of explained versus unexplained variance.E^{c)}: electrostatic field.HD^{e)}: hydrogen bond donor field.F5^{g)}: optimized model.S^{b)}: steric field.Hy^{d)}: hydrophobic field.HA^{f)}: hydrogen bond acceptor field.

($r^2_{cv} = 0.480$ 및 $r^2_{ncv} = 0.965$)의 특성장에 관한 기여비율은 Hy; 3.8%, S; 37.4% 및 E; 58.78%로 소수성장이 매우 작은 반면에 입체장과 정전기장이 비교적 큰 영향을 미치는 경향을 보였다. 그러나 CoMSIA 모델 별로 Minoxidil 유도체 (1-15) 들이 LH저해활성에 미치는 특성장에 대한 기여비율 (%)로부터 최적화된 F5 모델은 Hy; 36%, HA; 26.3%, HD; 22.9%, S; 9% 및 E; 5.8%의 순으로 소수성장과 수소결합장 (26.3 + 22.9 = 49.2%)의 기여비율이 약 1 : 1.4로 수소결합장이 큰 영향을 미친 반면에 입체장과 정전기장이 가장 낮은 영향을 미치는 경향이였다. CoMSIA F5 모델에 의한 예측된 저해활성과 관측된 저해활성과의 관계식 (Pred.In = 0.958Obs.In + 0.014; n = 15, s = 0.075, F = 395.26, $r^2 = 0.958$ 및 $q^2 = 0.930$) 으로부터 두 값들 사이에 상관성이 매우 양호하였다. 전체적으로 training set의 오차 (error)로부터 CoMSIA F5모델 (Ave. = 0.057 및 PRESS = 0.077)보다 HQSAR 6-2 모델 (Ave. = 0.044 및 PRESS = 0.048)이 다소 양호한 모델이었다.

3.4. CoMSIA 등고도

최적화된 CoMSIA F5 모델의 LH 저해활성에 미치는 특성장에 관한 등고도를 나타내었다. Fig. 4에는 가장 큰 저해활성을 보인 R₅ = 4-piperidinol 치환체 (compound 10)의 구조상에 입체장, 정전기장 및 소수성장에 관한 등고도를 나타내었다. 여기에서 pyrimidine-1-N-oxide group은 정전기장 (blue), 그리고 C2 및 C3원자에 걸쳐진 부분은 친수성 (cyan)에 각각 의존적이었다. Piperidinol group의 C3 원자 부분은 입체적으로 클수록 (green), C5 원자의 외부 즉, Piperidinol 고리상 수직인 부분은 입체적으로 작을수록 (opaque orange), 그리고 C6원자 부분은 소수성이 클수록 (violet) 저해활성에 기여할 것으로 각각 예상된다. Fig. 5에는 저해활성에 가장 큰 기여비율을 보였던 H-bond 주개장 (22.9%)과 H-bond 받개장 (26.3%)에 관한 등고도를 나타내었다. 즉, pyrimidine-1-N-oxide group의 N-oxide를 포함한 좌우의 amino group은 공간상 작은 영역에서 H-bond 주개를 좋아하는 작용기가 저해활성에 기여할 (cyan) 것으로 예상된다. 그러나 분자 윗부분의 오른쪽 부분 (C2 및 C3원자) 과 분자 아래의 전체 넓은 공간에는 H-bond 받개를 싫어하는 작용기 (sky blue)가, 그리고 piperidinol group의 C4 및 C5 원자 부분은 H-bond 받개를 좋아하는 작용기 (violet)가 저해활성에 기여할 것으로 각각 예상된다. 그런데 H-bond

받개를 좋아하는 작용기 부분은 커다란 H-bond 받개를 싫어하는 작용기가 위치한 영역의 안쪽에 존재하는 특징을 보이고 있다.

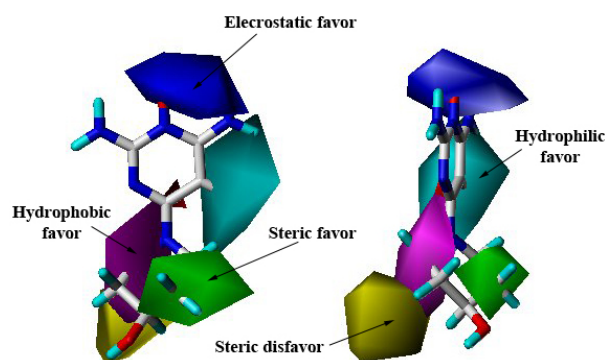


Fig. 4. Contour maps for steric, electrostatic and hydrophobic field (stdev * coeff) with the optimized CoMSIA F5 model. The most potent molecule (compound 10) is shown with capped sticks (left: front view & right: side view).

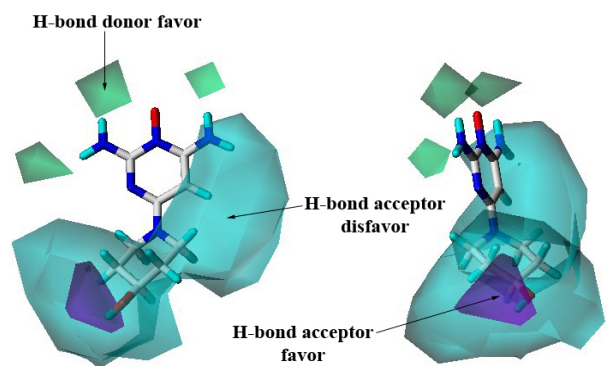


Fig. 5. Contour maps for H-bond donor field and H-bond acceptor field (stdev * coeff) with the optimized CoMSIA F5 model. The most potent molecule (compound 10) is shown with capped sticks (left: front view & right: side view).

이와 같이, LH에 미치는 저해활성은 Minoxidil 분자의 소수성장 (36%)과 수소결합장 (49.2%)에 의존적이었다. 여기에서 H-bond 받개는 산소원자 또는 인접에 수소원자가 존재하지 않는 질소원자들을 지칭하며 nitro, 비방향족 헤테로 고리 화합물 예컨대, furane, oxazole, isooxazol, ether, carbonyl

oxygen 및 C-O 결합의 산소나 질소원자는 포함되지 않는다 [24]. 이상과 같은 검토 결과로부터 LH에 대한 Minoxidil 유도체 (1-15)들의 저해활성화 반응에 기여하는 Minoxidil 분자의 구조적인 최소한의 요건들이 잠재적인 새로운 발모 성장제를 탐색하고 설계할 수 있을 것이다.

4. 결론

Minoxidil 유도체 (1-15)들과 그들의 인체피부 섬유아세포 내 LH에 대한 저해활성 사이의 정량적인 구조-활성관계 (QSAR)로부터 기질분자의 구조적인 특성을 이해하기 위하여, 분자 홀로그래피적인 QSAR과 비교분자 유사성 지수분석 (CoMSIA)이 정량적으로 검토되었다. 그 결과, 최적화된 HQSAR 6-2 모델의 기여도로부터 pyrimidine-1-N-oxide 치환체에서 $R_5=4$ -piperidinol group의 C'3-C'4결합, 그리고 C2원자 부분들이 저해활성에 가장 높은 기여를 나타내었다. 또한, 최적화된 CoMSIA F5 모델의 정보로부터 Minoxidil 유도체들의 LH에 대한 저해활성은 수소성장 (36%)과 수소결합장 (49.2%)에 의존적이었다. 특히, R_5 -group의 piperidinol group 주변 넓은 공간에는 H-bond 반개를 싫어하는 작용기, 그리고 C'4 및 C'5원자 부분은 H-bond 반개를 좋아하는 작용기가 저해활성에 기여할 것으로 예상되었다. 이와 같은 연구로부터 LH에 대한 Minoxidil 유도체들의 저해활성화 반응에 기여하는 기질분자들에 관련된 구조적인 요건들이 고려됨으로서 잠재적인 새로운 발모 성장제를 탐색하고 설계할 수 있다.

감사

이 논문은 한국기술교육대학교 교육연구진흥지원 프로그램의 일부 지원에 의해 수행되었음.

References

- Zappacosta, A. R. (1980) Reversal of baldness in patient receiving minoxidil for hypertension. *N. Engl. J. Med.* 303: 1480-1481.
- Suzuki, M. (2008) Hair loss mechanisms and treatment materials: A review. *Cosmetics Toiletries* 123: 51-58.
- Meisheri, K. D., G. A. Johnson, and L. Puddington (1993) Enzymatic and non-enzymatic sulfation mechanisms in the biological actions of minoxidil. *Biochem. Pharmacol.* 45: 271-279.
- Buhl, A. E., S. J. Conrad, and D. J. Waldon (1993) Potassium channel conductance as a control mechanism in hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* 101: 148-152.
- Messenger, A. G. and J. Rundegren (2004) Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. *Br. J. Dermatol.* 150: 186-194.
- Samimi, A. and J. A. Last (2001) Mechanism of inhibition of lysyl hydroxylase activity by the organophosphates malathion and malaoxon. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 176: 181-186.
- Walker, L. C., M. A. Overstreet, and H. N. Yeowell (2005) Tissue-specific expression and regulation of the alternatively-spliced forms of lysyl hydroxylase 2 (LH2) in human kidney cells and skin fibroblasts. *Matrix Biol.* 23: 515-523.
- Gelse, K., E. Pöschl, and T. Aigner (2003) Collagens-structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55: 1531-1546.
- Zuurmond, A. M., A. J. Verhoeven, E. A. Dura, J. D. Groot, and R. A. Bank (2004) Minoxidil exerts different effects on gene expression of lysyl hydroxylase 1, 2, and 3: Implications for collagen cross-linking and treatment of fibrosis. *Matrix Biol.* 24: 261-270.
- Trieb, R. M. (2001) The value of hair cosmetics and pharmaceuticals. *Dermatology* 202: 275-282.
- Murad, S. and S. R. Pinnell (1987) Suppression of fibroblast proliferation and lysyl hydroxylase activity by minoxidil. *J. Biol. Chem.* 262: 11973-11978.
- Hautala, T., J. Heikkinen, K. I. Kivirikko, and R. Myllyla (1992) Minoxidil specifically decreases the expression of lysine hydroxylase in cultured human skin fibroblasts. *Biochem. J.* 283: 51-54.
- Kim, S. J. and N. D. Sung (2011) CoMFA analysis on the inhibitory activity against lysyl hydroxylase of minoxidil analogues. *J. Korean Soc. Cosm.* 17: 753-758.
- Passoja, K., K. Rautavuoma, L. Ala-Kokko, T. Kosonen, and K. I. Kivirikko (1998) Cloning and characterization of a third human lysyl hydroxylase isoform. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 10482-10486.
- Hansch, C. (1969) A quantitative approach to biochemical structure-activity relationships. *Acc. Chem. Res.* 2: 232-239.
- Heritage, T. W. and D. R. Lewis (1999) Molecular hologram QSAR, pp. 212-225. In: A. S. Parrill, and M. R. Reddy (eds.), *Rational drug design: Novel Methodology and Practical Applications*, ACS Symposium Series, USA.
- Klebe, G., U. Abraham, and T. Mietzner (1994) Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *J. Med. Chem.* 37: 4130-4146.
- Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO 63144-2913, USA. <http://www.tripos.com/Bookshelf/hqsar>. (2006).
- Murad, S., M. C. Tennant, and S. R. Pinnell (1992) Structure-activity relationship of minoxidil analogs as inhibitors of lysyl hydroxylase in cultured fibroblasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 292: 234-238.
- Murad, S., L. C. Walker, S. Tajima, and S. R. Pinnell (1994) Minimum structural requirements for minoxidil inhibition of lysyl hydroxylase in cultured fibroblasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 308: 42-47.
- Sung, N. D. and J. H. Park (2011) 3D-QSAR analysis and molecular docking of thiosemicarbazone analogues as a potent tyrosinase inhibitor. *Bull. Korean Chem. Soc.* 32: 1241-1248.
- Tong, W., D. R. Lewis, R. Perkins, Y. Chen, W. J. Welsh, D. W. Goddette, T. W. Heritage, and D. M. Sheehan (1998) Evaluation of quantitative structure-activity relationship methods for large-scale prediction of chemicals binding to the estrogen receptor. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 38: 669-67.
- Micheal, S., B. T. David, and W. Peter (1999) Effect of parameter variations on the effectiveness of HQSAR analyses, *Quant. Struc-Act. Relat.* 18: 245-252.
- Schneider, G. and K. H. Baringhouse (2008) *Molecular design: Concepts and applications*. pp. 64-65. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.