

## 2-[(2,6-Dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체의 Tyrosinase 저해활성에 관한 2D-QSAR 분석

김 상 진 · 성 낙 도\*†

대전보건대학교 화장품과학과, 케모리랩, \*충남대학교 평화안보대학원 과학수사학과  
(2014년 10월 13일 접수, 2014년 10월 22일 수정, 2014년 11월 20일 채택)

### 2D-QSAR Analyses on The Tyrosinase Inhibitory Activity of 2-[(2,6-Dioxocyclohexyl)methyl]-cyclohexane-1,3-dione Analogues

Sang-Jin Kim and Nack-Do Sung\*†

Department of Cosmetic Science, Daejeon Health Sciences College, 21 Chungjeong-ro, Dong-gu, Daejeon 300-711, Korea  
Chemolee Lab, 3820 Conflans Rd Irving, Texas 75061, USA

\*Department of Scientific Criminal Investigation, Chungnam National University, 99 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea  
(Received October 13, 2014; Revised October 22, 2014; Accepted November 20, 2014)

**요 약:** 기질 분자로서 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체(1-23)들의 분자 내 치환기( $R_1$  및  $R_2$ )가 변화함에 따른 tyrosinase 수용체의 저해활성에 관한 2D-QSAR 모델로부터 다음과 같은 결론을 얻었다. 유도된 최적의 2D-QSAR 모델은  $Obs.pI_{50} = -0.295 (\pm 0.031)TDM -0.120 (\pm 0.014)DMZ + 0.135 (\pm 0.050)DMX.R_2 + 6.382 (\pm 0.17)$ 이었으며, 예측성( $q^2 = 0.843$ )보다는 상관성( $r^2 = 0.905$ )이 큰 모델이었다. Tyrosinase 저해활성은  $TDM > DMX.R_2 \geq DMZ$  순으로 영향을 미치었으며, 기질분자의 소수성( $ClogP > 0$ )이 크고,  $R_1$ -치환기의 입체적 크기가 클수록 더욱 증가하는 경향을 나타내었다. 모델을 분석한 결과, 분자 내  $R_2$ -치환기 상 X-축 성분의 쌍극자능률( $DMX.R_2$ )이 클수록, 그리고 분자 전체의 쌍극자능률( $TDM$ ; Total Dipole Moment)과 Z-성분의 쌍극자능률( $DMZ$ ; Dipole Moment of Z-Component)이 작을수록 기질분자의 tyrosinase 저해활성이 높아짐을 암시하였다. 따라서 tyrosinase 저해활성은 기질분자 및  $R_2$ -치환기의 전자 친화력에 기인한 것으로 예상되었다. 그러므로 저해활성을 증가시키려면 분자 내 극성 그룹을 소수성에 기여하는 비극성 작용기로 대체함이 바람직할 것으로 예측되었다.

**Abstract:** The following conclusion was made from the 2D-QSAR model for the tyrosinase inhibitory activity according to the variation of the substituents  $R_1$  and  $R_2$  in analogues of compound 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione (1-23). The best optimized 2D-QSAR model was  $Obs.pI_{50} = -0.295 (\pm 0.031)TDM -0.120 (\pm 0.014)DMZ + 0.135 (\pm 0.050)DMX.R_2 + 6.382 (\pm 0.17)$ , and the correlation ( $r^2 = 0.905$ ) of which was greater than its predictability ( $q^2 = 0.843$ ). The magnitude of the effect of tyrosinase inhibitory activities was in order of  $TDM > DMX.R_2 \geq DMZ$ , and it tended to increase as the hydrophobicity of substrate molecule ( $ClogP > 0$ ) as well as the steric favor of substituent  $R_1$  increased. The analysis of the model implies that inhibitory activity of substrate molecule will increase as  $DMX.R_2$  (Dipole moment X component of  $R_2$ -substituent) increases, while  $TDM$  (Total Dipole Moment) and  $DMZ$

† 주 저자 (e-mail: [ndsung15@hanmail.net](mailto:ndsung15@hanmail.net))  
call: 042)821-5243, 042)670-9392

(Dipole Moment of Z-Component) decrease. As such, it is deemed feasible to conclude, that in order to increase the inhibitory effect, it would be rather desirable to replace the polar groups within the molecules with non-polar functional groups.

**Keywords:** 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-diones, Tyrosinase inhibitory activity, 2D-QSAR model, Total dipole moment, ClogP

## 1. 서 론

현대에 이르러 많이 적용되고 있는 피부 미백의 원리로는 자외선 차단, 신호전달 조절, tyrosinase 생합성 및 활성저해, 생성된 melanin의 환원 그리고 피부의 turnover 촉진 등의 방법들을 활용하고 있다[1]. 이 중에서 피부의 미백에 있어서 매우 중요한 위치를 차지하고 있는 tyrosinase는 tyrosine을 melanin으로 변화시키는 작용을 통해 피부를 갈색 내지는 흑색으로 만들며 생성된 melanin은 자외선과 같은 외부의 자극으로부터 피부를 보호해 주는 역할을 하게 된다[2]. 그러나 melanin은 피부의 색을 검고 탁하며 칙칙하게 보이게 하는 주요 요인이 되기 때문에 많은 사람들은 피부가 검어지는 것을 피하기 위한 노력을 기울이고 있다.

Melanin이 만들어지는 과정은 대체적으로 산화과정으로 알려져 있으며 tyrosinase의 활성부위에 존재하는 2개의 구리( $\text{Cu}^{++}$ ) 원자는 tyrosine과 같은 phenol류 화합물을 산화시키는 촉매작용으로 dopaquinone 및 dopachrome 등을 만들기 때문에 phenol oxidase 또는 phenolase로 불리어 지기도 한다[3]. 그러므로 tyrosinase에 의한 산화를 억제하는 것은 피부미백에 있어서 매우 중요한 방법 중의 하나이다. Tyrosinase의 활성 저해제로 가장 많이 알려져 있는 성분으로는 arbutin과 kojic acid 등이 있다[4,5]. Arbutin은 hydroquinone에 당 분자가 결합한 hydroquinone-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, (IUPAC; 2-(hydroxymethyl)-6-(4-hydroxyphenoxy)oxane-3,4,5-triol)로 tyrosine과 유사한 구조를 가지고 있어 tyrosinase에 대한 경쟁적 저해제로 작용을 한다[6]. 대체적으로 tyrosine과 유사한 구조인 phenol기를 지니고 있는 물질들이 tyrosinase 활성저해 효과를 나타내고 있음을 볼 때 새로운 tyrosinase 활성 저해제를 탐색할 경우, phenol유도체를 대상으로 탐색을 시작하는 것도 좋은 방법 중의 하나일 것이며 arbutin 뿐 아니라 hydroquinone도 이러한 이유로 tyrosinase 활성저해 작용을 한다고 할 수 있다[7]. 한편, kojic acid는 tyrosinase의

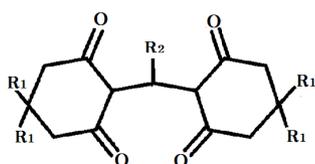
구리( $\text{Cu}^{++}$ )와 결합을 하여 tyrosine이 dopachrome이나 dopaquinone으로 변환되는 것을 차단하는 비경쟁적 저해제이다[8]. 경쟁적 저해제와 비경쟁적 저해제 중 어느 것이 더 효과적이라는 하는 점은 단적으로 설명하기에는 무리가 있으므로 대부분 이 두 가지 모두에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 현재까지 대부분의 tyrosinase 활성저해제를 탐색하기 위한 연구방법으로는 천연물로부터 활성이 있을 것으로 예측되는 성분을 추출하고 분리하여 효과를 확인하는 방법이 많이 보고되어 있다[9-15]. 하지만 이러한 방법들은 천연물에 함유되어 있는 성분들이 tyrosinase의 활성에 어느 정도의 저해능력을 지니고 있는지만을 파악할 뿐 보다 강력하고 효과 있는 물질의 탐색에는 한계가 있다. 최근 들어 컴퓨터를 이용한 분자설계가 강력하고 효과 있는 물질의 탐색에 많은 도움을 주고 있으며 이런 이유로 컴퓨터를 이용한 drug design과 관련된 연구가 점차 증가해 가고 있다[16-20]. 몇 가지 예를 들어보면 oleanolic acid 유도체의 PTP-1B (Protein Tyrosin Phosphatase-1B)에 대한 CoMFA 분석[21] 및 CoMSIA 분석[22]을 통하여 tyrosinase 저해 활성이 우수한 oleanolic acid 유도체를 탐색해 내었다. 또한, 구조와 피부 감작성 및 독성과의 관계를 HQSTR[23] 및 HQSAR 분석을 통하여 미백효과가 우수한 화합물들을 탐색하였다. 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl] cyclohexane-1,3-dione 유도체의 tyrosinase 저해활성에 관한 HQSAR 분석[24], tetraketone 유도체들의 tyrosinase 저해활성에 대한 분자도킹과 3D-QSAR 분석[25] 등 3D-QSAR, HQSAR, HQSTR 및 CoMFA 분석 등을 통하여 피부 감작성과 독성이 낮으면서 tyrosinase의 활성을 저해시킬 수 있는 화합물을 예측해낸 결과들이 보고되었다. 특히, HQSAR 분석결과로부터  $R_1 = \text{CH}_3$  및  $R_2 = 2,4-(\text{NH}_2)_2\text{ph}$ 일 경우 kojic acid에 비하여 약 13.4배 높은 tyrosinase저해 활성을 나타낼 것으로 보고되기도 하였다[24].

본 연구에서는 기질분자로서 2-[(2,6-dioxocyclohex

**Table 1.** Hydrophobicity of Substrate Analogues (1-23) and Their Observed Inhibitory Activities (*Obs.pI<sub>50</sub>*) Against Tyrosinase and Predicted Inhibitory Activities (*Pred.pI<sub>50</sub>*) by the Optimized 2D-QSAR Model for Training Set (n = 17)[26,27]

| No | Substituents (R) |   | ClogP  | <i>Obs.pI<sub>50</sub></i> | <i>Pred.pI<sub>50</sub></i> | $\Delta^a$ |
|----|------------------|---|--------|----------------------------|-----------------------------|------------|
|    | R <sub>1</sub>   | R <sub>2</sub>                            |        |                            |                             |            |
| 1  | H                | ph  | 0.210  | 4.68                       | 4.79                        | -0.11      |
| 3  | H                | 4-OHph                                    | -0.457 | 4.09                       | 4.02                        | 0.07       |
| 4  | H                | 3,4-(OH) <sub>2</sub> ph                  | -1.054 | 4.45                       | 4.64                        | -0.19      |
| 6  | H                | 3-OCH <sub>3</sub> , 4-OHph               | -0.608 | 4.32                       | 4.18                        | 0.14       |
| 7  | H                | 2-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 4-OHph | -0.079 | 4.50                       | 4.53                        | -0.03      |
| 8  | H                | 4-OCH <sub>3</sub> ph                     | 0.129  | 4.85                       | 4.93                        | -0.08      |
| 9  | H                | 2-OCH <sub>3</sub> ph                     | -0.271 | 4.24                       | 4.32                        | -0.08      |
| 10 | H                | 4-NO <sub>2</sub> ph                      | -0.047 | 4.87                       | 4.81                        | 0.06       |
| 12 | H                | 3-NO <sub>2</sub> ph                      | -0.047 | 4.72                       | 4.73                        | -0.01      |
| 14 | H                | 3-NH <sub>2</sub> ph                      | -1.017 | 5.19                       | 5.19                        | 0.00       |
| 15 | CH <sub>3</sub>  | ph  | -1.017 | 5.15                       | 4.95                        | 0.20       |
| 16 | CH <sub>3</sub>  | 4-OHph                                    | 2.286  | 4.97                       | 4.97                        | 0.00       |
| 17 | CH <sub>3</sub>  | 4-OCH <sub>3</sub> ph                     | 2.205  | 5.03                       | 5.09                        | -0.05      |
| 18 | CH <sub>3</sub>  | 3-OCH <sub>3</sub> ph                     | 2.205  | 4.49                       | 4.56                        | -0.07      |
| 19 | CH <sub>3</sub>  | 4-NH <sub>2</sub> ph                      | 1.059  | 4.98                       | 5.04                        | -0.05      |
| 20 | CH <sub>3</sub>  | 3-NH <sub>2</sub> ph                      | 1.059  | 5.27                       | 5.06                        | 0.21       |
| 23 | CH <sub>3</sub>  | 3-Brph                                    | 3.149  | 4.55                       | 4.56                        | -0.01      |

Notes; Ave. = 0.081, Predicted residual sum of squares (PRESS) = 0.187, <sup>a</sup>difference between observed inhibitory activity (*Obs.pI<sub>50</sub>*) by experiment, and predicted activity (*Pred.pI<sub>50</sub>*) by optimized 2D-QSAR model.

**Figure 1.** General structure of 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione (1-23) analogues (R<sub>1</sub> = H or CH<sub>3</sub> group) as substrate molecule.

yl)methyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체들(1-23)의 수용체인 tyrosinase에 대한 저해활성을 검토하기 위하여 분자 내 치환기(R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>)가 변화함에 따른 물리-화학상수로서 분자량, 총 쌍극자능률, 쌍극자능률 조성, 전체 소수성, 소수성분, 소수성 상수 및 topological indice 등의 값들과 tyrosinase 활성저해(pI<sub>50</sub>)와의 상관성을

분석하여 tyrosinase 저해활성에 미치는 물리-화학적인 요인을 도출하고 검토하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. Tyrosinase에 대한 저해활성

일련의 기질 분자로서 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체(Figure 1; 1-23)들의 분자 내 치환기(R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>) 변화에 따른 tyrosinase의 저해효과(pI<sub>50</sub>)와 기질 화합물들의 피부 침투성 정도를 알아보기 위하여 Sybyl 7.0 (Tripos Associates, St. Louis, MO, USA)으로 ClogP를 계산하고 이를 Table 1에 정리하였다. 실험으로 얻어진 tyrosinase에 대한 저해 활성값(IC<sub>50</sub> 또는 EC<sub>50</sub>)에 근거하여[26, 27] 다음의 식에

따라서 기질화합물의 분자량(M.wt) 개념을 포함하고 각 기질 화합물의 치환기 효과를 보다 효과적으로 반영할 수 있는  $pI_{50}$  값을 산출하여 2D-QSAR 분석에서 종속변수로 사용하였다.

$$pI_{50} = -\log (IC_{50}/M.wt \times 1000)$$

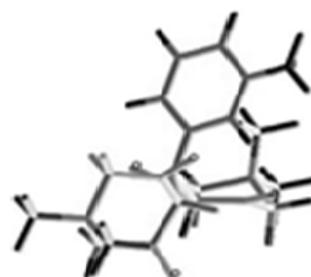
## 2.2. 2D-QSAR 분석

Tyrosinase 저해활성에 영향을 미치는 기질분자로서 2-[2,6-dioxocyclohexylmethyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체(1-23)들의 구조와 활성과의 관계(QSARs)를 정량적으로 분석하기 위하여 다중회귀분석은 TSAR 프로그램(Ver. 3.3, Accelrys, UK)으로, 그리고 2D-QSAR 모델은 SAS 프로그램(Ver.9.1, SAS Institute, USA)으로 유도하였다. 2D-QSAR 분석은 분자의 다양한 물리-화학 파라미터(physicochemical parameters)를 독립변수로, 그리고 기질분자의 생물 활성값( $pI_{50}$ )을 종속변수로 활용하여 기질분자의 구조적인 특징들과 생물활성 사이의 다중회귀분석을 실시하여 상관성 관계를 예측하는 방법이다[28]. 본 연구에서 독립변수로 사용한 물리-화학 파라미터는 기질분자의 총 쌍극자능률 (Total dipole moment; Debye), 쌍극자 능률조성(Dipole moment component), 분자 표면적(Surface area;  $\text{\AA}^2$ ), 분자량(M.Wt.), 분자부피(Molecular volume;  $\text{\AA}^3$ ), 소수성분(Lipole component), 총 소수성(Total Lipole)[29], 소수성 상수(Hydrophobicity; logP, 물-옥탄을 분배계수)[30,31], 회전가능 결합(Rotatable Bond)의 수, 몰라굴절률(Molar Refraction;  $\text{cm}^3/\text{mol.}$ ) 및 밀도, 표면장력, 점도 등의 정량적인 값들과 화합물의 기하학적인 요소들과의 공간적 관계를 나타낸 Randic topological indice와 Wiener topological indice를 구하여 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 구조와 저해활성

기질분자인 2-[2,6-dioxocyclohexylmethyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체(1-23)들로 구성된 data set ( $n = 23$ )의 저해 활성값( $pI_{50}$ )은 Table 1에 제시한 바와 같이 4.09 ~ 5.27 범위로 고르게 분포하고 있다. 이 중에서 가장 낮은 저해활성을 나타내는 화합물(3)은  $R_1 = H$  및  $R_2 = 4\text{-OHph}$  치환체로  $pI_{50} = 4.09$ 이었으며 가장 높은 저해



**Figure 2.** Contributions structure to the tyrosinase inhibitory activity of the most potent ( $Obs.pI_{50} = 5.27$ ) compound (20;  $R_1 = CH_3$  &  $R_2 = 3\text{-NH}_2\text{ph}$ ).

활성을 나타내는 화합물(20)은  $R_1 = CH_3$  및  $R_2 = 3\text{-NH}_2\text{ph}$  치환체로  $pI_{50} = 5.27$ 이었다. 화합물(3)과 화합물(20)의 저해활성 값의 차이( $\Delta pI_{50}$ )는 1.18로 그 차이가 비교적 크기 때문에 이 유도체들의  $Obs.pI_{50}$  값은 2D-QSAR 분석에 적합한 data set로 판단되었다. 구조적으로  $R_2$ -치환기가 ph로 동일하지만  $R_1$ -치환기가 H와  $CH_3$ 로 서로 다른  $R_1 = H$  (1;  $pI_{50} = 4.68$ ) 및  $R_1 = CH_3$  (15;  $pI_{50} = 5.15$ )인 두 화합물의 저해활성을 비교한 결과,  $R_1$ -치환기가 큰 경우(bulky)에 저해활성이 현저하게 큰( $\Delta pI_{50} = 0.47$ ) 경향을 나타내었다. 그리고 저해활성에 기여하는  $R_2$ -치환기의 입체적 및 소수성(ClogP)의 특징은 가늠하기가 어려웠다. 그러나  $R_2$ -치환기가 3-NH<sub>2</sub>ph로 같으나  $R_1$ -치환기가 서로 다른  $R_1 = H$  (14;  $pI_{50} = 5.19$ ) 및  $R_1 = CH_3$  (20;  $pI_{50} = 5.27$ )인 치환체가 가장 큰 저해활성을 보였다.  $R_1$ -치환기가 상이함에 따른 소수성의 차이는  $\Delta ClogP = 2.076$ 이었고 저해활성의 차이는  $\Delta pI_{50} = 0.08$ 로 소수성의 차이가 더 크게 나타났다. Figure 2에는 가장 큰 저해활성( $pI_{50} = 5.27$ )을 나타낸  $R_1 = CH_3$  및  $R_2 = 3\text{-NH}_2\text{ph}$  치환체인 화합물(20)의 가장 안정한 3차원 구조를 나타내었다. 이 3차원 구조로부터 분자 내 원자들 사이의 반발력을 최소화하기 위하여  $R_2 = 3\text{-NH}_2\text{ph}$  치환기가 윗부분에 위치하고,  $R_1$ -치환기들이 결합된 두 개의 4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexyl group이 아래 부분에  $R_2$ -치환기의 결합 축을 중심으로 수직으로(vertical) 놓여있어 극성인 carbonyl group들이 서로 멀리 위치해 배열되어 있음을 볼 수 있다. 따라서  $R_1$ -치환기가 입체적으로 크고 소수성이 큰( $ClogP > 0$ ) 경우에 저해활성이 현저하게 증가하는 경향을 나타낸다는 사실을 알 수 있다.

**Table 2.** Hydrophobicity of 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione Analogues and their Observed Inhibitory Activity ( $Obs.pI_{50}$ ) Against Tyrosinase and Predicted Inhibitory Activity ( $Pred.pI_{50}$ ) by the Optimized Model for Test Set ( $n = 6$ )

| No. <sup>a)</sup> | Substituents    |   | ClogP | $Obs.pI_{50}$ | $Pred.pI_{50}$ | $\Delta$ <sup>b)</sup> |
|-------------------|-----------------|---|-------|---------------|----------------|------------------------|
|                   | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub>                            |       |               |                |                        |
| 2                 | CH <sub>3</sub> | 2-OCH <sub>3</sub> , 4-OHph               | 1.468 | 4.45          | 5.12           | -0.67                  |
| 5                 | CH <sub>3</sub> | 3-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 4-OHph | 1.997 | 4.67          | 4.99           | -0.32                  |
| 11                | CH <sub>3</sub> | 2-OCH <sub>3</sub> ph                     | 1.805 | 4.41          | 4.09           | 0.33                   |
| 13                | CH <sub>3</sub> | 4-NO <sub>2</sub> ph                      | 2.029 | 4.80          | 4.46           | 0.34                   |
| 21                | CH <sub>3</sub> | 4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ph     | 2.451 | 4.49          | 5.17           | -0.68                  |
| 22                | CH <sub>3</sub> | 3-Clph                                    | 2.999 | 5.10          | 4.55           | 0.55                   |

Notes; Ave. = 0.480, Predicted residual sum of squares (PRESS) = 1.527, <sup>a)</sup>Out linear compounds, <sup>b)</sup>Difference between observed activity ( $Obs.pI_{50}$ ) and predicted activity ( $Pred.pI_{50}$ ).

### 3.2. 2D-QSAR 모델

일련의 기질분자들의 치환기가 변화함에 따라 tyrosinase에 대한 저해 활성값( $Obs.pI_{50}$ )과 2D-QSAR 모델에 의한 예측값( $Pred.pI_{50}$ )을 Table 1에 나타내었다. 그리고 모델의 예측능력을 알아보기 위하여 임의로 설정된 test set ( $n = 17$ )으로서 out linear ( $n = 6$ ) 화합물들에 대한 저해활성 값과 예측값을 Table 2에 요약하였다.

기질 분자들의 tyrosinase 저해 활성값( $Obs.pI_{50}$ )과 물리-화학 파라미터와의 정량적인 상관성 관계를 분석하기 위하여 다중회귀분석을 실시하였다. 그 결과, 독립변수로 선택된 물리-화학 파라미터들은 전체분자의 쌍극자능률(Total dipole moment; TDM) 및 쌍극자능률의 Z-조성(Dipole moment Z component; DMZ) 그리고 R<sub>2</sub>-치환기의 쌍극자능률에 대한 X-조성(Dipole moment X component; DMX. R<sub>2</sub>)이었으며 기질 유도체들에 대한 각 파라미터 값들을 Table 3에 정리하였다. 또한, 검토된 각 2D-QSAR 모델들의 독립변수인 설명인 자들에 대한 각 변수들은 서로 독립적이었으며 다음 (1)식이 통계적으로 가장 양호함을 나타내었다.

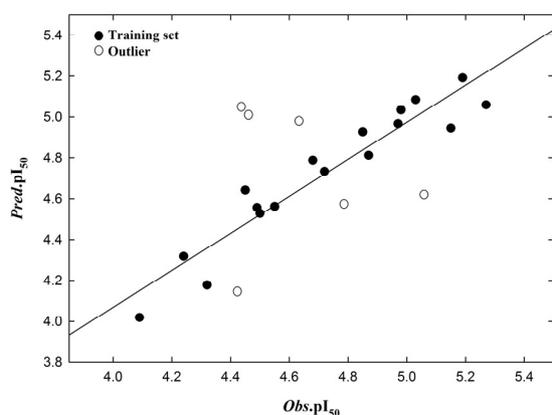
$$Obs.pI_{50} = -0.295 (\pm 0.031)TDM - 0.120 (\pm 0.014)DMZ + 0.135 (\pm 0.050)DMX. R_2 + 6.382 (\pm 0.17), (n = 17, F = 36.08, S = 0.585 \text{ 및 } R^2 = 0.905) \dots\dots\dots (1)$$

최적화된 2D-QSAR 모델인 (1)식으로부터 기질 및 치환기(R<sub>2</sub>)의 쌍극자능률 값이 저해효과에 큰 영향을 미치고 있음을 나타내었으며 변수의 계수에 대한 절대값을 기준으로 저해활성에는 TDM > DMX.R<sub>2</sub> ≥ DMZ 순으로 영향을 미치었다. 또한, 분자 내 R<sub>2</sub>-치환

**Table 3.** Summary of Used Physicochemical Parameters of 2-[(2,6-dioxo cyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione Analogues (1-23) in 2D-QSAR Models ( $n = 23$ )

| No | ClogP <sup>a)</sup> | TDM <sup>b)</sup> | DMZ <sup>c)</sup> | DMX.R <sub>2</sub> <sup>d)</sup> |
|----|---------------------|-------------------|-------------------|----------------------------------|
| 1  | 0.210               | 4.892             | 1.442             | 0.145                            |
| 2  | 1.468               | 5.808             | 5.526             | 0.053                            |
| 3  | -0.457              | 6.005             | 0.247             | 0.441                            |
| 4  | -1.054              | 6.750             | 1.848             | 0.042                            |
| 5  | 1.997               | 6.822             | -0.775            | 0.482                            |
| 6  | -0.608              | 3.869             | 1.662             | -0.857                           |
| 7  | -0.079              | 7.342             | -2.228            | -1.223                           |
| 8  | 0.129               | 6.894             | -3.462            | 0.374                            |
| 9  | -0.271              | 7.169             | -3.958            | -0.043                           |
| 10 | -0.047              | 4.392             | -1.740            | -0.771                           |
| 11 | 1.805               | 5.691             | -1.967            | 0.057                            |
| 12 | -0.047              | 4.888             | -0.451            | -0.208                           |
| 13 | 2.029               | 4.130             | -1.002            | -1.245                           |
| 14 | -1.017              | 6.063             | -1.880            | 1.277                            |
| 15 | -1.017              | 4.209             | -0.266            | -0.652                           |
| 16 | 2.286               | 7.041             | -0.024            | 1.840                            |
| 17 | 2.205               | 8.478             | -0.600            | 0.972                            |
| 18 | 2.205               | 6.248             | 0.442             | -0.205                           |
| 19 | 1.059               | 5.300             | -1.295            | 0.455                            |
| 20 | 1.059               | 4.591             | -0.163            | 0.091                            |
| 21 | 2.451               | 5.248             | -1.567            | 1.072                            |
| 22 | 2.999               | 5.296             | 2.141             | -0.116                           |
| 23 | 3.149               | 5.281             | 2.069             | -0.124                           |

Whole molecule: <sup>a)</sup>Hydrophobicity, <sup>b)</sup>Total Dipole Moment, <sup>c)</sup>Dipole Moment of Z-Component in R<sub>2</sub> group: <sup>d)</sup>Dipole Moment of X-Component.



**Figure 3.** Relationship between observed inhibitory activity ( $Obs.pI_{50}$ ) and predicted inhibitory activity ( $pred.pI_{50}$ ) by the optimized 2D-QSAR model (For training set:  $Pred.pI_{50} = 0.906Obs.pI_{50} + 0.445$ ,  $n = 17$ ,  $s = 0.106$ ,  $F = 143.164$ ,  $r^2 = 0.905$  &  $q^2 = 0.843$ ).

기의 X-축 성분 쌍극자능률(DMX.R<sub>2</sub>)이 클수록, 그리고 분자 전체의 쌍극자능률(TDM) 및 Z-축 성분 쌍극자능률(DMZ)은 작을수록 기질분자의 tyrosinase 저해 효과가 높아짐을 암시하였다. 이 같은 현상은 기질분자가 극성인 4개의 carbonyl group으로 구성됨에 따라 tyrosinase 활성부위에 위치한 전기양성적인 구리(Cu<sup>++</sup>) 이온과의 친화력이 크게 작용하기 때문으로 예상된다. 그러므로 고탄성 분자의 구조적인 특징은 분자전체의 구조상 쌍극자능률이 작으면서 R<sub>2</sub>-치환기는 극성 치환기가 tyrosinase 저해활성을 높일 수 있을 것이라 예측되었다. (1)식을 유도할 때 사용한 화합물은 17개이었고 변수는 3개를 사용하였으므로 우연 상관성은 없다. 그리고 관측값과 2D-QSAR 모델에 의한 예측값 사이의 비례관계를 Figure 3에 제시하였다. 2D-QSAR 모델을 유도하는데 사용된 점(●)으로 표시한 training set에 비하여 원(○)으로 표시한 outlier 화합물들이 직선상에서 벗어나 멀리 위치하는 것으로 보아 2D-QSAR 모델은 예측성( $q^2 = 0.843$ ) 보다는 상관성( $r^2 = 0.905$ )이 큰 모델임을 잘 설명하고 있다. 그리고 기질분자들이 수용체인 tyrosinase에 대한 저해활성을 증가시키기 위해서는 최적화된 2D-QSAR 식(1)에 따라서 tyrosinase의 반응점에 결합하는 기질 분자전체의 구조상 쌍극자능률이 작으면서 R<sub>2</sub>-치환기는 극성 치환기에 의하여 tyrosinase 저해효과가 향상될 것으로 예상되었다. 이 같은 요소들을 만족하는 구조적인 수

식이 이루어지는 경우에는 매우 양호한 저해활성이 나타날 수 있을 것으로 예측되었다.

#### 4. 결 론

기질 분자인 2-[(2,6-dioxocyclohexyl)methyl]cyclohexane-1,3-dione 유도체(1-23) 내 치환기(R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>)의 물리-화학 파라미터가 변화함에 따라 수용체인 tyrosinase 저해 활성값( $Obs.pI_{50}$ )과의 2D-QSAR 모델을 분석한 결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

R<sub>1</sub>-치환기가 입체적으로 크고 소수성이 큰(ClogP > 0) 경우에 저해활성이 현저하게 증가하는 경향을 나타내었으며 최적화된 2D-QSAR 모델은 예측성( $q^2 = 0.843$ )보다는 상관성( $r^2 = 0.905$ )이 큰 모델이었다.

저해활성에는 물리-화학 파라미터가 TDM > DMX.R<sub>2</sub> ≥ DMZ 순으로 R<sub>2</sub>-치환기의 X-축 성분 쌍극자능률(DMX.R<sub>2</sub>)이 클수록, 그리고 분자 전체의 쌍극자능률이 작을수록 기질분자의 tyrosinase 저해효과가 높아짐을 암시하였다.

2D-QSAR 모델의 독립변수가 기질분자의 쌍극자능률 값들로 구성됨에 따라 저해활성은 극성인 4개의 carbonyl group들이 tyrosinase의 활성부위에 위치한 전기양성인 구리(Cu<sup>++</sup>) 이온과의 전자 친화력에 기인한 것으로 예상되었다.

기질분자의 극성이 큰 편이므로 tyrosinase 저해활성을 증가시키려면 4개의 carbonyl group들을 소수성에 기여하는 탄화수소와 같은 비극성 작용기(alkyl group)로 대체함이 바람직할 것으로 예측되었다.

#### Reference

1. S. Parvez, M. Kang, H. S. Chung, C. Cho, M. C. Hong, M. K. Shin, and H. Bae, Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents, *Phytother. Res.*, **20**(11), 921 (2006).
2. K. Iozumi, G. E. Hoganson, R. Pennella, M. A. Everett, and B. B. Fuller, Role of tyrosinase as the determinant of pigmentation in cultured human melanocytes, *J. Invest. Dermatol.*, **100**(6), 806 (1993).
3. G. Prota, Progress in the chemistry of melanins and

- related metabolites, *Med. Res. Rev.*, **8**(4), 525 (1988).
- S. Akiu, Y. Suzuki, T. Asahara, Y. Fujinuma, and M. Fukuda, Inhibitory effect of arbutin on melanogenesis-biochemical study using cultured B16 melanoma cells, *Jpn. J. Dermatol.*, **101**(6), 609 (1991).
  - J. S. Chen, C. Wei, and M. R. Marshall, Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase, *J. Agric. Food Chem.*, **39**(11), 1897 (1991).
  - K. Maeda and M. Fukuda, Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **276**(2), 765 (1996).
  - A. Palumbo, M. d'Ischia, G. Misuraca, and G. Prota, Mechanism of inhibition of melanogenesis by hydroquinone, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1073**(1), 85 (1991).
  - T. S. Chang, An updated review of tyrosinase inhibitors, *Int. J. Mol. Sci.*, **10**(6), 2440 (2009).
  - J. H. Seok, S. Y. Lee, E. J. Chae, and S. W. Choi, Skin whitening effects of *Caragana sinica* Rehder extract fermented by *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7913, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **36**(3), 207 (2010).
  - S. Y. Lee, S. M. Lee, W. B. Heo, J. G. Kim, and Y. H. Kim, Effect of *Nigella sativa* oil on melanogenesis, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **37**(4), 319 (2011).
  - Y. H. Chang, J. S. Ryu, S. H. Lee, S. G. Park, H. D. Bhattarai, J. H. Yim, and M. H. Jin, Inhibition of melanogenesis by ramalin from the antarctic lichen *Ramalina terebrata*, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(3), 247 (2012).
  - S. M. Lee, J. E. Kim, M. J. Oh, J. D. Lee, Y. J. Jeon, and B. Kim, Biological potential of enzymatic and polyphenol extracts from *Ecklonia cava*, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(1), 19 (2013).
  - J. Y. Lee, K. R. Im, T. K. Jung, and K. S. Yoon, The inhibitory effects of *Alnus Japonica* Steud. extract on melanogenesis, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(2), 159 (2013).
  - S. S. Kwon, S. H. Jeon, J. M. Jeon, J. W. Cheon, and S. N. Park, Antioxidative effects of *Inula britannica* var. *chinensis* flower extracts according to the flowering period and species of *Inula britannica* var. *chinensis*, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(3), 195 (2013).
  - S. B. Han, S. S. Kwon, B. J. Kong, K. J. Kim, and S. N. Park, Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of the unripened fruit extract of *Rubus coreanus* Miquel, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(4), 295 (2013).
  - G. R. Marshall, Computer-aided drug design, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **27**, 193 (1987).
  - I. D. Kuntz, Structure-based strategies for drug design and discovery, *Science*, **257**(5073), 1078 (1992).
  - P. J. Gane, and P. M. Dean, Recent advances in structure-based rational drug design, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **10**(4), 401 (2000).
  - A. C. Anderson, The process of structure-based drug design, *Chem. Biol.*, **10**(9), 787 (2003).
  - R. V. Guido, G. Oliva, and A. D. Andricopulo, Virtual screening and its integration with modern drug design technologies, *Curr. Med. Chem.*, **15**(1), 37 (2008).
  - S. J. Kim, S. G. Kim, and N. D. Sung, CoMFA Analysis on inhibitory effect of 3 $\beta$ -hydroxy-12-oleanen-28-oic acid analogues on PTP-1B activity and prediction of active compounds, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(2), 109 (2008).
  - S. J. Kim, Y. H. Chung, S. G. Kim, and N. D. Sung, CoMSIA analysis on the inhibition activity of PTP-1B with 3 $\beta$ -hydroxy-12-oleanen-28-oic acid analogues, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **51**(3), 171 (2008).
  - S. J. Kim, N. D. Sung, and H. S. Jung, Holographic quantitative structure-toxicity relationships on the skin sensitization of alkyl-3,4-dihydroxybenzoate and N-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide derivatives, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **31**(1), 91 (2005).
  - S. J. Kim, Y. O. Kim, Y. K. Cho, W. S. Choi, and N. D. Sung, HQSAR analyses on the tyrosinase inhibitory activity of phenyl-2,2'-methylenebis(cyclohexane-1,3-dione) analogues, *J. Soc. Cosmet.*

- Scientists Korea*, **36**(3), 199 (2010).
25. S. J. Kim, W. S. Choi, and N. D. Sung, Molecular docking and 3D-QSAR analysis on the tyrosinase inhibitory activity of tetraketone analogues, *J. Kor. Soc. Cosm.*, **17**(4), 759 (2010).
  26. K. M. Khan, G. M. Maharvi, M. T. Khan, A. J. Shaikh, S. Perveen, S. Begum, and M. I. Choudhary, Tetraketones: A new class of tyrosinase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**(2), 344 (2006).
  27. W. S. Choi, Master's Thesis Dissertation, Chungnam National University, Daejeon, Korea (2011).
  28. A. Z. Dudek, T. Arodzb, and J. Galvezc, Computational methods in developing quantitative structure-activity relationships (QSAR): A review, *Comb. Chem. High Throughput Screen*, **9**(3), 213 (2006).
  29. T. Ghafourian, E. G. Samaras, J. D. Brooks, and J. E. Riviere, Validated models for predicting skin penetration from different vehicles, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **41**(5), 612 (2010).
  30. C. Yamagami, K. Araki, K. Ohnishi, K. Hanasato, H. Inaba, M. Aono, and A. Ohta, Measurement and prediction of hydrophobicity parameters for highly lipophilic compounds: application of the HPLC column-switching technique to measurement of log P of diarylpyrazines, *J. Pharm. Sci.*, **88**(12), 1299 (1999).
  31. G. E. Kellogg and D. J. Abraham, Hydrophobicity: is LogP (o/w) more than the sum of its parts?, *Eur. J. Med. Chem.*, **35**(7-8), 651 (2000).