

N-Phenyl-O-phenylthionocarbamate 유도체의 항균활성에 미치는 phenyl 치환기의 효과

성낙도* · 성민규

충남대학교 농과대학 응용생물화학부

요약 : 일련의 N-phenyl-O-phenylthionocarbamate 유도체를 합성하고, benomyl 및 metalaxyl 등 2종의 침투성 살균제에 대하여 저항성과 감수성을 나타내는 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*) 및 고추 역병균(*Phytophthora capsici*)에 대한 항균활성(obs. PI_{50})과 치환기 변화에 따른 구조-활성관계(SAR)를 Free-Wilson방법과 Hansch방법으로 검토하였다. 치환기의 기여도는 O-phenyl group (Y)보다 N-phenyl group(X)이 비교적 높았으며 ortho-치환체(X)들이 다른 치환체들에 비해 양호한 항균활성을 나타내었다. 특히 X-치환기로써 4-cyano 치환체, 2는 0.8ppm에서 저항성 고추역병균(RPC)에 대한 균사생장을 50%저해($PI_{50}=5.50$)하였으며 hydroxyl 치환체, 12와 23는 저항성 및 감수성 잣빛 곰팡이균(RBC, SBC)과 감수성 고추역병균(SPC)에 대하여 대체로 높은 항균활성을 나타내었다. SPC균은 MR상수에 의존적인 항균활성을 나타내었고 나머지 3종의 균에 대한 항균활성은 공통적으로 소수성(π 및 $\log P$)에 의존적이었다. 그리고 RPC 및 SBC균의 항균활성을 향상시키기 위한 조건으로는 전자끌게로써 적정 값의 σ 상수($\sigma_{opt}=0.32$) 및 F상수($F_{opt}=0.181$)를 갖는 치환기가 치환되어야 항균활성이 개선될 것으로 예상되었다. (1999년 1월 6일 접수, 1999년 4월 30일 수리)

Key Words : phenylthionocarbamates, SAR, fungicidal activity, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora capsici*.

서 론

두 가지 유형으로 분류되는 침투성과 비 침투성 살균제 중에서 연구의 대부분은 침투성 살균제에 관한 내용들이 일반적이다. 특히, 침투성 살균제의 저항성 문제를 해소하기 위한 연구는 비교 우위적이거나 대부분 이들 carbamate유도체들은 제초제로 사용되어지고 있으며(Tomlin 등, 1997) 항균제로서의 연구는 많지 않다.

Carbendazim 및 benomyl등 benzimidazole계 살균제는 곰팡이의 균사 생장 억제작용으로 β -tubulin 생합성을 저해하는데 감수성균은 β -tubulin gene의 189번 아미노산인 glutamic acid인 반면에 저항성균은 돌연변이에 의하여 alanine이나 glycine으로 치환되어 있음이 알려져(Yarden 등, 1993)있다. Carbamate보다 thionocarbamate화합물들의 항균활성에 대한 연구(Ludwig 등,

1960)는 상대적으로 적기는 하지만, carbamate 못지않게 활성이 발현되는 것으로 알려져 있다.

저자들은 새로운 항균제를 탐색하기 위하여 carboxanilide(성 등, 1997b, 1998a), benzotriazole (성 등, 1995 및 1997a) 및 propenone 유도체(성 등, 1998b 및 1998c)들의 구조변화에 따른 활성과의 관계(SAR)에 관한 일련의 연구 결과들을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 4-phenyl 치환된 thionocarbamate 유도체들이 유의할 만한 활성을 나타내었다는 사실을 근거(Velasco, 1995)로 일련의 N-phenyl-O-phenyl thionocarbamate 유도체를 합성하고 구조변화에 따른 benzimidazole계 살균제인 benomyl에 대한 저항성 및 감수성 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*) 그리고 phenylamide계 침투성 살균제인 metalaxyl에 대한 저항성과 감수성을 발현하는 고추 역병균(*Phytophthora capsici*) 등에 대한 구조-활성 관계(SAR)를 Free-Wilson방법(Kubinyi, 1990) 및 Hansch방법(Hansch 등, 1964)으로 검토하였다.

*연락처자

재료 및 방법

시약 및 기기

N-Phenyl-*O*-phenylthionocarbamate 유도체의 합성에 사용된 thiophosgen, 치환-aniline 및 phenol 유도체들은 Aldrich제의 1급 시약을 사용하였으며, 1,4-dioxane과 chloroform 및 methylene chloride 등 기타 용매들은 가능한 정제하여 사용하였다. 합성된 화합물의 구조 확인에는 Varian EM-360 모델(200MHz)의 ¹H-NMR spectrometer과 JEOL TMS-DX303 모델의 MS spectrometer를 이용하였다. 그리고 화합물의 녹는점은 Electrothermal melting point apparatus(MEL-TEMP II)로 측정하여 보정하지 않은 값을 그대로 자료화 하였다.

N-(4-methoxy)phenylchlorothionoformate, 1: 4-Methoxyphenol (2.48 g, 20 mM)을 30 ml chloroform에 녹이고 -10°C에서 NaOH(0.8 g, 20 mM)를 넣어 30분 정도 온도를 유지하면서 저어주었다.

용액중에 sodium 4-methoxyphenoxide가 형성됨을 확인한 후, 10ml의 chloroform에 회석한 thiophosgene (1.7 ml, 24 mM)을 -30°C에서 천천히 첨가하고 상온이 될 때까지 저어주었다. 그리고 6시간 동안 환류시켜 methylene chloride와 물로 수 차례 추출하였다. 유기층을 magnesium sulfate으로 건조하고 여과한 다음에 감압, 농축하여 ethyl acetate:n-hexane (1:7, v/v)의 용매 조건으로 column chromatography를 통하여 노란색 기름상의 액체 1을 얻었다. ¹H-NMR(CDCl₃/TMS) δ (ppm): 3.80(t, 3H, OCH₃), 6.8~7.3(m, 4H, phenyl); Mass(m/z, relative intensity): 203(5.7, M⁺), 139(100)

N-(4-methoxy)phenyl-*O*-(4-methoxy)phenylthionocarbamate, 14: 화합물, 1 (0.303g, 1.5 mM)를 30 ml의 1,4-dioxane에 녹이고, 0°C에서 *p*-anisidine(0.369 g, 3.0 mM)를 가하여 1시간 정도 반응시키고 methylene chloride와 물로 추출하였다. 유기층을 magnesium sulfate으로 건조하고 여과하여 농축한 다음에 얻어진 고체를 methylene chloride로 재결정하여 14(0.355g, yield: 82.0%)를 합성하였다. Obs. m.p.=164~166°C, ¹H-NMR(CDCl₃/TMS) δ (ppm) : 3.8(s, 6H, OCH₃), 6.8~8.0(m, 8H, phenyl), 8.5(1H, NH); Mass (m/z, relative

intensity) : 273(14.6, M⁺), 91(100)

이와 같은 방법으로 화합물, 1~37들을 각각 합성하였다.

항균활성의 측정

작용기전이 다른 것으로 알려져 있는 benzimidazole계 및 phenylamide계 살균제에 대하여 저항성 및 감수성을 갖는 식물 병원균에 대한 기질 유도체들의 항균활성을 탐색하기 위하여 항균활성 검정대상 균주로는 충남대학교 농생물학과에서 오염되지 않고 다른 약제에 대하여 내성이 없는 잣빛곰팡이병균 (*Botrytis cinerea*, BC.)과 고추 역병균(*Phytophthora capsici*, PC.) 그리고 benomyl 및 metalaxyl 살균제에 대한 저항성(Resistance) 및 감수성(Sensitivity)의 잣빛곰팡이병균(RBC 및 SBC) 및 고추 역병균(RPC 및 SPC)을 각각 사용하였다.

항균활성의 측정은 한천회석법으로 PDA배지상에서 소정의 기간동안 배양시켜 유도체 별로 3반복 실시하여 균사생장을 50% 저해하는 항균활성(obs. pI₅₀)값을 각각 얻었다.

SAR식의 계산

항균활성에 미치는 치환기들의 기여도를 검토하기 위하여 SAS프로그램(SAS Software Ver. 6.12)으로 Free-Wilson 분석을 실시하였다. 그리고 관측된 항균활성값(Obs. pI₅₀)과 다양한 물리-화학 파라미터들(Hansch 등, 1991)을 QSAR-PC:PAR 프로그램(Coburn, 1987)에 적용하여 구조활성 관계(SAR)식을 유도하였다. 물리-화학 파라미터로서 소수성(logP) 상수는 CLOGP프로그램(Ver. 3.53)으로 계산하고 LUMO값은 PM3 (HyperChem) 프로그램으로 최적화(minimized)한 다음에 계산하였다. 또한, 입체 파라미터로써 지시변수(I₀, I_m 및 I_p)등 SAR식의 유도에 이용된 물리-화학 파라미터들을 표 3에 정리하였다.

결과 및 고찰

항균 활성

기질 유도체들의 소수성은 logP=2~4.5 범위(Hansch 등, 1995b)의 값(표 3)을 가지므로 항균제로써 적정한

소수성 값을 갖는다. 따라서 benomyl 살균제에 저항성을 갖는 RBC균의 3종의 식물병원균을 대상으로 항균활성을 측정하 바 대체적으로 균종간 및 저항성과 감수성에 대한 특이한 선택성의 차이는 보이지 않았으나 일반적으로 metalaxyl 살균제에 대한 RPC균은 나머지 균들 보다 비교적 높은 항균활성을 보였다.

관측된 균 종별 항균활성(obs. pI₅₀) 값(표 2)은 대체적으로 유사한 경향(RBC: 3.37(1)~4.61(12), SBC: 3.59(16)~4.34(12) 및 SPC: 3.18 (10)~4.48(23))을 보였으나 RPC균의 경우에는 예외적으로 넓은 범위(3.71(37)~5.50(2))의 항균활성을 나타내었다. 특히 X-치환기로써 4-cyano 치환체인 2는 0.8 ppm 수준의 저농도에서 RPC균의 균사생장을 50%저해하였으며(pI₅₀=5.50) hydroxyl group이 도입된 12와 23는 RBC균과 SBC균 및 SPC균에 대하여 대체로 높은 항균활성을 나타내었다.

균 종간 선택성의 경향은 찾을 수 없었으며, 전체적으로 ortho-치환체가 다른 meta- 및 para-치환체 보다 높은 항균활성을 나타내었으나 전반적으로 유의성(t)있는 활성 관계식은 없었다. 그러나 RBC균과 SBC균 사이의 항균활성 관계식 (SBC(pI₅₀)=+0.644RBC(pI₅₀)+1.444, n=37, s=0.091, F=135.36, r=0.891, r²=0.800)으로부터 기질 유도체는 BC균에 대하여 비선택적인 항균활성을 나타내었다.

구조-활성관계(SAR)

항균활성 증진에 기여하는 N-phenyl(X) 및 O-phenyl(Y) group의 치환기를 선택하기 위하여 생물 활성값(pI₅₀)을 치환기들의 기여도(contribution)에 관한 합(Kubinyi, 1990))으로 나타내는 Free-Wilson(Kubinyi 등, 1976)분석을 실시하였다.

한 예로, RBC균에 대한 치환기들의 기여도를 검토하기 위하여 작성된 matrix(표 1)를 근거로 상관성이 매우 큰 (1)식을 유도하였다.

이 식에 따라 치환기(표 1)의 계수를 비교함으로써 O-phenyl(Y)보다 N-phenyl(X) group이 항균활성에 큰 영향을 미치고 있음을 알 수 있었다. 특히, 가장 많은 기여도를 나타내는 (X)치환기로는 전자끌개인 4-acetyl(+0.828) group이었으며 (Y)치환기로는 전자밀개인 4-methoxy(+0.065) group이었다.

$$RBC:pI_{50} = +0.340(\pm 0.021)[OCH_3(X)] + 0.065(\pm 0.015)[OCH_3(Y)] + 0.410(\pm 0.021)[Cl(X)] - 0.098(\pm 0.020)[Cl(Y)] + 0.003(\pm 0.020)[F(Y)] + 0.828(\pm 0.020)[C(O)CH_3(X)] + 0.683(\pm 0.020)[CN(X)] + 3.370(\pm 0.015)$$

..... (1)

(n=9, s=0.015, F=443.77, r=0.998 및 r²=0.996)

Table 1. Fungicidal activities of N-(X)-phenyl-O-(Y)-phenylthionocarbamate^{a)} derivatives in vitro against resistant Botrytis cinerea (RBC) and matrix used for Free-Wilson analysis

Comp. (X)	(Y)	pI ₅₀	OCH ₃ (X)	OCH ₃ (Y)	Cl(X)	Cl(Y)	F(Y)	C(=O)CH ₃ (X)	CN(X)
1 4-H	4-H	3.37							
2 4-CN	4-H	4.06							1
3 4-OCH ₃	4-H	3.71	1						
4 4-Cl	4-H	3.78			1				
5 4-C(=O)CH ₃	4-H	4.19						1	
6 4-C(=O)CH ₃	4-Cl	4.10				1		1	
7 4-C(=O)CH ₃	4-F	4.20					1	1	
8 4-C(=O)CH ₃	4-OCH ₃	4.27		1				1	
9 4-CN	4-OCH ₃	4.11		1					1
Group contribution ^{b)}			+0.340	+0.065	+0.410	-0.098	+0.003	+0.828	+0.683

^{a)}(X)PhNHC(=S)OPh(Y), ^{b)}The values were calculated according to the eq.(1).

Table 2. Observed and calculated fungicidal activities(pl_{50}) of *N*-(X)-phenyl-*O*-methoxyphenylthionocarbamate derivatives *in vitro* against four fungi, and observed melting points

Comp.	(X)	(Y)	M.P.(°C)	RBC		SBC		RPC		SPC				
				Obs.	Calc. ^{a)} Dev.	Obs.	Calc. ^{a)} Dev.	Obs.	Calc. ^{a)} Dev.	Obs.	Calc. ^{a)} Dev.			
1 ^{b)}	4-H	4-H	142~143	3.37	3.37	0.00	3.60	3.60	3.96	3.96	0.00	3.80	3.80	0.00
2 ^{b)}	4-CN	4-H	162~164	4.06	4.05	0.01	4.06	4.05	5.21	5.50	0.29	4.16	4.09	0.07
3 ^{b)}	4-OCH ₃	4-H	188~140	3.71	3.71	0.00	3.61	3.61	4.08	4.08	0.00	3.83	3.83	0.00
4 ^{b)}	4-Cl	4-H	128~129	3.78	3.78	0.00	4.01	4.01	4.12	4.12	0.00	4.14	4.14	0.00
5 ^{b)}	4-C(=O)CH ₃	4-H	129~133	4.19	4.20	-0.01	4.11	4.10	4.51	4.51	-0.29	4.19	4.26	-0.07
6 ^{b)}	4-C(=O)CH ₃	4-Cl	137~139	4.10	4.10	0.00	4.10	4.11	4.69	4.69	0.00	4.22	4.22	0.00
7 ^{b)}	4-C(=O)CH ₃	4-F	155~156	4.20	4.20	0.00	4.07	4.07	4.46	4.46	0.00	4.21	4.21	0.00
8	4-C(=O)CH ₃	4-OCH ₃	151~153	4.27	4.30	-0.03	4.09	4.19	4.42	4.39	0.03	4.39	4.36	0.03
9	4-CN	4-OCH ₃	152~154	4.11	4.07	0.04	4.08	4.05	4.25	4.19	0.06	4.08	3.98	0.10
10	4-CF ₃	4-OCH ₃	155~157	3.59	3.58	0.01	3.69	3.75	3.93	3.88	0.04	3.18	3.05	0.13
11	4-NO ₂	4-OCH ₃	118~120	4.09	3.99	0.10	4.06	3.91	4.15	4.09	0.06	3.64	3.81	-0.17
12	4-OH	4-OCH ₃	166~168	4.61	4.20	0.41	4.34	4.07	3.91	3.93	-0.02	4.35	4.21	0.14
13	4-CH ₃	4-OCH ₃	110~112	3.74	3.58	0.16	3.68	3.71	3.79	3.87	-0.08	3.36	3.42	-0.06
14	4-OCH ₃	4-OCH ₃	164~166	3.72	3.80	-0.08	3.87	3.87	3.97	4.05	-0.08	3.56	3.81	-0.25
15	4-Cl	4-OCH ₃	159~161	3.52	3.60	-0.08	3.79	3.74	4.00	4.00	0.00	3.28	3.54	-0.26
16	4-Br	4-OCH ₃	135~137	3.56	3.48	0.08	3.59	3.73	4.08	4.02	0.06	3.20	3.41	-0.21
17	4-F	4-OCH ₃	151~153	3.54	3.65	-0.11	3.71	3.78	4.01	3.94	0.08	3.27	3.21	0.06
18	4-H	4-OCH ₃	124~126	3.43	3.47	-0.04	3.68	3.74	3.79	3.90	-0.11	3.56	3.45	0.11
19	3-C(=O)CH ₃	4-OCH ₃	138~141	4.26	4.33	-0.07	4.13	4.19	4.37	4.33	0.04	4.23	4.23	0.00
20	3-CN	4-OCH ₃	124~126	3.84	4.08	-0.24	4.08	4.05	4.17	4.22	-0.05	4.39	4.29	0.10
21	3-CF ₃	4-OCH ₃	119~121	3.56	3.60	-0.04	3.75	3.75	3.85	3.90	-0.05	3.44	3.37	0.07
22	3-NO ₂	4-OCH ₃	129~131	3.98	3.97	0.01	3.92	3.91	4.05	4.12	-0.07	4.14	4.07	0.07
23	3-OH	4-OCH ₃	131~133	4.11	4.06	0.05	4.08	4.07	4.25	4.14	0.11	4.48	4.57	-0.09
24	3-CH ₃	4-OCH ₃	94~96	3.49	3.55	-0.06	3.77	3.71	3.88	3.91	-0.04	3.39	3.78	-0.39
25	3-OCH ₃	4-OCH ₃	138~141	3.66	3.70	-0.04	3.86	3.87	4.18	4.20	-0.02	4.19	4.20	-0.01
26	3-Cl	4-OCH ₃	110~112	3.48	3.56	-0.08	3.76	3.74	4.02	4.00	0.02	4.08	3.89	0.19
27	3-Br	4-OCH ₃	87~89	3.55	3.58	-0.03	3.73	3.73	4.01	4.02	-0.01	4.31	4.19	0.12
28	3-F	4-OCH ₃	135~137	3.60	3.57	0.03	3.67	3.78	3.94	3.97	-0.03	3.52	3.58	-0.06
29	2-CN	4-OCH ₃	72~74	4.02	4.10	-0.08	4.06	4.22	3.72	3.89	-0.17	3.72	3.97	-0.25
30	2-CF ₃	4-OCH ₃	72~74	4.12	4.04	0.08	4.10	3.91	3.78	3.90	-0.12	3.84	3.71	0.13
31	2-NO ₂	4-OCH ₃	70~72	4.02	4.06	-0.04	4.03	4.08	3.89	4.00	-0.11	3.75	3.61	0.14
32	2-OH	4-OCH ₃	146~148	4.15	4.21	-0.06	4.19	4.24	4.03	4.03	0.00	3.94	3.82	0.12
33	2-CH ₃	4-OCH ₃	116~118	3.82	4.01	-0.19	3.83	3.87	3.91	3.89	0.02	4.18	4.13	0.05
34	2-OCH ₃	4-OCH ₃	84~86	4.11	4.03	0.08	4.17	4.03	4.07	3.99	0.08	4.01	3.81	0.20
35	2-Cl	4-OCH ₃	115~117	3.67	3.75	-0.08	3.86	3.91	4.11	4.00	0.11	3.70	3.54	0.16
36	2-Br	4-OCH ₃	119~121	3.80	3.56	0.24	3.96	3.89	3.85	3.73	0.12	3.90	3.83	0.07
37	2-F	4-OCH ₃	108~109	3.81	3.75	0.06	3.89	3.95	3.71	3.60	0.11	3.66	3.92	-0.26

RBC : Resistant *Botrytis cinerea*, SBC : Sensitive *Botrytis cinerea*, RPC : Resistant *Phytophthora capsici*, SPC : Sensitive *Phytophthora capsici*,
^{a)}The values were calculated according to Eq.(2)~(5) in Table 4 and to ^{b)}Free-Wilson analysis method.

이 같은 결과에 따라 (Y)치환기로는 가장 높은 활성을 보인 methoxy group을 고정시키고 (X)치환기로는 위치별로 상이한 30여종의 유도체를 합성하여 치환기의 위치와 종류가 변화함에 따른 구조와 항균활성과의 관계(SAR)를 검토하였다. 즉, 화합물 1~7은 (1)식과 같은 유형의 식으로 그리고, 8~37은 Hansch 방법(Hansch 등, 1995a)으로 유도한 SAR식(표 4)으로 계산하여 예상되는 항균활성값(Calc.pI₅₀)을 표 2에 각각 정리하였다.

먼저 RBC균에 대한 (2)식으로부터 항균 활성값은 π 상수($\pi = \log(P_X/P_H)$)에 가장 의존적(T-검정값=10.184)

이었다. 뿐만 아니라, X-치환기와 상응하는 효소중 반응중심의 가상적인 공간이 약간커야함을 시사하는 치환기 폭이 큰($B_1 > 0$) 전자 밀계($\sigma < 0$)로서 극성($\pi < 0$)의 치환체가 ortho-위치($I_o > 0$)에 도입되어야 향상된 항균활성을 나타낼 것으로 예상된다. 치환기 변화에 따른 치환기상수(σ)와 HOMO 및 LUMO 에너지(e.v.)와의 관계를 검토한 바, LUMO 에너지는 전자밀계($\sigma < 0$)에 의하여 의존적이나 유의성(LUMO(e.v.)=-0.631 σ -1.123, n=30, s=0.593, F=6.91**, r=0.445, r²=0.198)이 크지 못하다. 그러나, LUMO 에너지(e.v.)항이 포함된 식으로 항균활성을 80%(100r²)이상 설명하고 있으므로 기질 분

Table 3. Physico-chemical parameters of N-(X)-phenyl substituents in N-(X)-phenyl-O-methoxyphenylthionocarbamate derivatives

Cmpd.	(X)	π^a	$\log P^b$	MR ^c	F ^d	σ^e	L ₁ ^f	B ₁ ^f	B ₃ ^f	LUMO ^g	I _p ^h	I _m ^h	I _o ^h
8	4-C(=O)CH ₃	-0.55	1.93	11.18	0.32	0.50	4.06	1.90	2.36	-1.360	1	0	0
9	4-CN	-0.57	3.10	6.33	0.51	0.66	4.23	1.60	1.60	-1.479	1	0	0
10	4-CF ₃	0.88	4.38	5.02	0.38	0.54	3.30	1.98	2.44	-1.485	1	0	0
11	4-NO ₂	-0.28	2.74	7.36	0.67	0.78	3.44	1.70	2.44	-1.798	1	0	0
12	4-OH	-0.67	2.30	2.58	0.29	-0.37	2.74	1.35	0.35	-1.117	1	0	0
13	4-CH ₃	0.56	3.62	5.65	-0.04	-0.17	3.00	1.52	1.90	-1.040	1	0	0
14	4-OCH ₃	-0.02	3.07	7.78	0.26	-0.27	3.98	1.35	1.90	-1.009	1	0	0
15	4-Cl	0.71	3.98	6.03	0.41	0.23	3.52	1.80	1.80	-1.194	1	0	0
16	4-Br	0.86	4.13	8.88	0.44	0.23	3.83	1.95	1.95	-0.220	1	0	0
17	4-F	0.14	3.41	0.92	0.43	0.06	2.65	1.35	1.35	-1.228	1	0	0
18	4-H	0.00	2.97	1.03	0.00	0.00	2.06	1.00	1.00	-1.067	1	0	0
19	3-C(=O)CH ₃	-0.55	0.93	11.18	0.32	-0.38	4.06	1.90	2.36	-0.246	0	1	0
20	3-CN	-0.57	3.10	6.33	0.51	0.56	4.23	1.60	1.60	-1.362	0	1	0
21	3-CF ₃	0.88	4.38	5.02	0.38	0.43	3.30	1.98	2.44	-1.384	0	1	0
22	3-NO ₂	-0.28	2.74	7.36	0.67	0.71	3.44	1.70	2.44	-1.544	0	1	0
23	3-OH	-0.67	2.30	2.58	0.29	0.12	2.74	1.35	0.35	-1.117	0	1	0
24	3-CH ₃	0.56	3.62	5.65	-0.04	-0.07	3.00	1.52	1.90	-1.038	0	1	0
25	3-OCH ₃	-0.02	3.07	7.78	0.26	0.12	3.98	1.35	1.90	-1.082	0	1	0
26	3-Cl	0.71	3.98	6.03	0.41	0.37	3.52	1.80	1.80	-1.179	0	1	0
27	3-Br	0.86	4.13	8.88	0.44	0.39	3.83	1.95	1.95	-1.213	0	1	0
28	3-F	0.14	3.41	0.92	0.43	0.34	2.65	1.35	1.35	-1.246	0	1	0
29	2-CN	-0.57	3.10	6.33	0.51	1.18	4.23	1.60	1.60	-1.466	0	0	1
30	2-CF ₃	0.88	4.38	5.02	0.38	0.43	3.30	1.98	2.44	-3.062	0	0	1
31	2-NO ₂	-0.28	2.74	7.36	0.67	0.95	3.44	1.70	2.44	-1.314	0	0	1
32	2-OH	-0.67	2.30	2.58	0.29	-0.20	2.74	1.35	0.35	-0.200	0	0	1
33	2-CH ₃	0.56	3.62	5.65	-0.04	-0.13	3.00	1.52	1.90	-2.730	0	0	1
34	2-OCH ₃	-0.02	3.07	7.78	0.26	-0.37	3.98	1.35	1.90	-1.015	0	0	1
35	2-Cl	0.71	3.98	6.03	0.41	0.40	3.52	1.80	1.80	-1.208	0	0	1
36	2-Br	0.86	4.13	8.88	0.44	1.10	3.83	1.95	1.95	-1.224	0	0	1
37	2-F	0.14	3.41	0.92	0.43	1.20	2.65	1.35	1.35	-2.943	0	0	1

^a)Partition coefficients; ^b)PCLOGP program; ^c)Molar refractivity(cm³/mol); ^d)Field effect; ^e)Sigma constants; ^f)STERIMOL parameter; ^g)Energy(e.v.) of the lowest unoccupied molecular orbital; ^h)Indicator variable for ortho, meta, and para position.

자는 전자끌개(LUMO)로 그리고 수용체는 전자주개(HOMO)로 작용하는 효소와 기질사이에는 친전자성 반응(Klopman, 1974)이 다소 우세할 것으로 판단된다. 따라서 기질 분자의 반응중심은 thiocarbonyl 탄소원자가 될 것임을 예상할 수 있다.

(3)식으로 설명되는 SBC균에 대한 항균활성은 RBC균과 특이성이 없었으며 치환기의 소수성(π)과 폭(B_1) 그리고 지시변수(I_0) 등이 영향을 미치고 있다. 그러나, RBC균의 경우와는 다르게 F상수의 적정값이 대략 0.18정도라는 사실로부터 약한 전자끌개($F>0$)가 치환되어야 항균활성이 개선될 것으로 믿어진다. 또한, 다른 유도체들에 비해 SBC균에 대하여 높은 항균활성을 보인 12, 30 및 34이 (3)식으로부터 유도된 계산값(calc. pI_{50})과 편차를 나타내는 이유는 (3)식 중에 이용된 물리-화학 파라미터 이외의 다른 파라미터들이 이들 화합물들의 항균활성을 설명하는 것으로 보아진다.

한편, 식물 병원균의 ribosomal(r)-RNA 합성과정중 일부분을 저해함으로써 균체의 정상적인 단백질 합성을 방해하여 항균활성을 발현하는(Cremlyn, 1991) 것으로 알려진 metalaxyl 살균제에 대하여 특이적으로 저항성 및 감수성을 갖는 RPC 및 SPC균에 대한 항균활성과 구조변화에 따른 관계식을 (4)식 및 (5)식에 각각 나타내었다. 이 식들 역시 80%(100 r^2)이상으로 항균활성을 설명하고 있다. Metalaxyl 살균제에 대하여 2,000ppm이상의 농도에서도 저항성을 발현하는 RPC균에 대한 항균활성을 설명하는 (4)식에서는 화학

물의 생체막 통과와 흡수에 관여하는 자유에너지의 척도(Toplis, 1975)인 소수성($\log P = \log P_H + \sum \pi$)외에도 치환기의 길이(L_1) 및 전자효과(σ)상수로 조합된 비선형 1차식($pI_{50} = -0.105 \log P + 0.147 L_1 - 0.077 \sigma + 3.868$, $n=30$, $s=0.133$, $F=9.16^{**}$ 및 $r=0.717$)을 유도하였다. 그러나 각각의 변수에 대하여 선형 자유에너지 관계식(Wells, 1963)을 검토한 2차식으로부터 σ 상수의 적정값이 0.321정도의 값에 가까운 전자끌개($\sigma>0$)로써 약제운송에 관여하는 소수성의 정도가 극성($\log P<0$)이며 치환기의 길이($L_1>0$)가 긴 치환체 일수록 항균활성이 향상될 것으로 예상된다.

SPC균에 대한 항균활성을 설명하는 (5)식은 RPC균에 비해 소수성($\log P$)의 경향은 유사했으나 다른 입체효과(B_3) 및 전자효과(LUMO)의 경향은 상이한 차이를 보였다. 특히, 치환기의 위치($I_m>0$) 뿐만 아니라, 치환기와 phenyl-group의 benzene핵과 결합하고 있는 가장 긴 결합축(L)에 수직한 네 방향의 폭 중에서 세 번째 크기를 갖는 치환기의 폭(B_3)이 작은 폭의 치환기($B_3<0$)여야 항균활성이 증진될 것임을 시사하고 있다. 항균활성에 가장 많은 영향을 미치는 변수로 판단(T -검정값 = 7.126)되는 분자굴절(MR)상수는 온도에 대하여 독립적인 양인 분자 분극율에 비례하는 체적의 단위(Cm^3/mol)를 가지는 척도(Fujita, 1979)로서 계수의 부호에 따라 분산력(MR>0)과 입체효과(MR<0)로 작용하는 것(Kubinyi, 1993)으로 설명된다. 그러나 (5)식에서는 MR상수의 계수가 작은 양(MR>0)의 값을 보이므로 치환체의 역할(Oleson, 1979)을 단정적으로

Table 4. Best correlation equations on the antifungal activities(pI_{50}) in vitro against four fungi

Fungi	Eq. No.	Equations	n^a	s^b	F^c	r^d	r^e
RBC	(2)	$pI_{50} = -0.544 \pi + 0.703 B_1 - 0.146 LUMO - 0.301 \sigma + 0.195 I_0 + 2.615$ (0.053) (0.124) (0.047) (0.072) (0.059) (0.212)	30	0.136	22.78	0.909	0.826
SBC	(3)	$pI_{50} = -0.603(F-0.180)^2 - 0.318 \pi + 0.296 B_1 + 0.165 I_0 + 3.445$ (0.043) (0.100) (0.042) (0.141)	30	0.104	15.35	0.873	0.762
RPC	(4)	$pI_{50} = -0.480(\sigma - 0.321)^2 - 0.161 \log P + 0.145 L_1 + 4.082$ (0.022) (0.027) (0.122)	30	0.083	28.08	0.904	0.808
SPC	(5)	$pI_{50} = -0.181 \log P - 0.418 LUMO + 0.141 MR - 0.612 B_3 + 0.363 I_m + 4.006$ (0.048) (0.061) (0.020) (0.093) (0.071) (0.172)	30	0.178	24.05	0.913	0.834

^a)Number of compounds used in regression analysis; ^b)Standard error; ^c)Calculated F value; ^d)Correlation coefficient; ^e)Variance in pI_{50} (Obs.) explained by the regression.

언급하기는 어렵다고 믿어진다.

이상과 같은 연구 결과를 바탕으로 BC군에 있어서 저항성과 감수성의 차이는 SBC의 경우 전자끌개 ($F_{opt}>0$)로서 F 상수의 적정값($F_{opt}=0.180$)에 의존적인 반면에 RBC는 전자밀개($\sigma<0$)로서 음의 LUMO값 ($LUMO<0$)에 따르는 것으로 예상된다. 그리고 RPC군은 적정값($\sigma_{opt}=0.321$)의 전자끌개($\sigma>0$)가 영향을 미치는 반면, SPC군은 치환기의 폭($B_3<0$)과 음의 LUMO값($LUMO<0$)이 각각 차별적으로 기질-수용체간 상호작용(Oleson, 1979)에 영향을 미치는 것으로 믿어진다.

감사의 글

본 연구는 98년도 한국과학재단의 핵심 전문연구과제(No. 981-0604-057-1) 연구비 지원으로 수행되었습

인용문헌

- Coburn, R. A. (1987) QSAR-PC: PAR, Biosoft. Cambridge, U.K.
- CLOGP(Ver. 3.53) logP. Calculation algorithm. Pomona college medicinal chemistry project. Claremont. CA. 91711, U.S.A.
- Cremlyn, R. J. (1991) Agrochemicals; Preparation and mode of action, Ch. 7, pp.208~214, John Wiley & Sons, England.
- Fujita, T. (1979) Structure activity relationship; Quantitative approaches, Ch. 2, 139~141, Nankodo, Tokyo.
- Hansch, C. and T. Fujita, (1964) ρ - σ - π Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure, J. Am. Chem. Soc., 86:1616~1626.
- Hansch, C., A. Leo and R. W. Taft (1991) A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters, Chem. Rev., 91:165~195.
- Hansch, C. and A. Leo (1995a) Exploring QSAR, ACS, Washington, D.C.
- Hansch, C. and A. Leo (1995b) Classical and 3D QSAR in agrochemistry, ACS. Symp. Ser. No. 606, ACS. Washington, D.C.
- Hyperchem(Ver. 4.0) (1993) Hyperchem for windows. Ch. 7, Chemical calculation. Hypercube Inc. Ontario Canada.
- Klopman, G. (1974) Chemical reactivity and reaction paths, Ch. 4, 55~165.
- Kubinyi, H. and O. H. Kehrhahn (1976) Quantitative structure-activity relationships.; The modified Free-Wilson approach, J. Med. Chem., 19:578~586.
- Kubinyi, H. (1990) The Free-Wilson method and its relationship to the extrathermodynamic approach. 58 9~643, Quantitative drug design of medicinal chemistry, Vol. 4, Pergamon Press, U.K.
- Kubinyi, H. (1993) QSAR: Hansch analysis and related approaches, Ch. 3., 40~41 VCH, New York.
- Ludwig, G. A. and G. D. Thorn (1960) Chemistry and mode of action of dithiocarbamate fungicides. In Advances in pest control research, Vol. 3, Interscience, New York.
- Oleson, E. C. and R. E. Christofferson (1979) Computer-assisted drug design, 161~189, ACS Symp. Ser., No. 112, ACS, Washington, D.C.
- SAS(Ver. 6.12) (1996) SAS(r) Proprietary Software, SAS Institute Inc. Cary, NC., USA.
- Selassie, C. D., R. L. Li, M. Poe, and C. Hansch (1991) On the optimization of hydrophobic and hydrophilic substituent interactions of 2,4-diamino-5-(sub.benzyl)pyrimidines with dihydrofolate reductase, J. Med. Chem. 34:46~54.
- Toplis, C. and Y. C. Martin (1975) Drug design (E. J. Ariens, Ed.,) Vol. 5. 1, Academic Press, New York. (11Ed.), British crop protection council. UK.
- Tomlin. C. D. S. Ed., (1997) The pesticide manual, Velasco, M. A., J. Thorne, R. L. Wain (1995) Fungicidal activity of phenyl N-(4-substituted-phenyl) thionocarbamates, J. Agric, Food Chem., 43:2260~2261.
- Yarden, O., T. Katan (1993) Mutations leading to substitutions at amino acids 198 and 220 of betatubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of *Botrytis cinerea*, Phytopathology., 83:1478~1483.

- Wells, P. R. (1963) Linear free energy relationship, *Chem. Rev.*, 63:171~219.
- 성낙도, 임치환, 이경준 (1995) N-[1-benzotriazol-1-yl]alkyl]aniline 유도체의 결정 구조와 항균활성, *한국농화학회지* 38(4):359~363.
- 성낙도, 유성재, 성민규, 김대황 (1997a) 새로운 N-치환 benzotriazol-1-yl 유도체의 항균활성에 미치는 치환기 효과, *한국농화학회지* 40(1):80~84.
- 성낙도, 유성재, 임치환, 남기달, 한호규 (1997b) Iminothiazole carboxanilide 유도체의 항균활성에 미치는 2-phenylimino group의 영향, *한국농약과학회지* 1(1):7~12.
- 성낙도, 유성재, 남기달, 장기혁, 한호규 (1998a) 새로운 5,6-dihydro-2-trifluoromethyl-1,4-oxathiincarboxanilide 유도체의 항균활성에 미치는 치환-phenylcarbamoyl group의 영향, *한국농약과학회지* 2(3):57~62.
- 성낙도, 유성재, 김태영, 옥환석 (1998b) 비스 방향족 α, β -불포화 케톤 유도체 중 2-thienyl 및 2-furyl 치환체의 항균성에 관한 치환 phenyl backbone의 영향, *한국농약과학회지* 2(2):22~28.
- 성낙도, 유성재, 임치환, 赤松美紀 (1998c) 비스 방향족 α, β 불포화 케톤 유도체 중 2-thienyl 및 2-furyl 치환체의 항균활성에 관한 비교분자장 분석 (CoMFA), *한국농약과학회지* 2(2):16~21.

Phenyl substituent effect on the fungicidal activity of N-phenyl-O-phenylthionocarbamate derivatives

Nack-Do Sung* and Min-Gyu Soung (Division of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture, Chung-nam National University, Taejeon 305-764, Korea)

Abstract: A series of N-phenyl-O-phenylthionocarbamate derivatives were synthesized and determined fungicidal activities *in vitro* against gray mold (*Botrytis cinerea*) and capsicum phytophthora blight (*Phytophthora capsici*) which showed resistance and sensitivity to benomyl and metalaxyl as systemic fungicides, respectively. The structure-activity relationship (SAR) was investigated by Free-Wilson analysis method and Hansch method. From the basis on the findings, the N-phenyl(X) groups had more contributions than O-phenyl(Y) groups did and *ortho*-substituents on the N-phenyl group showed high fungicidal activities. Especially, 4-cyano substituent, **2** as X-group showed 50% inhibition ($pI_{50}=5.50$) of hyphae growth at 0.8ppm against resistance *P. capsici* (RPC). And hydroxyl substituents, **12** and **23** displayed the highest fungicidal activity against resistant *B. cinerea* (RBC), sensitive *B. cinerea* (SBC), and sensitive *P. capsici* (SPC). Antifungal activities of SPC were dependent upon molar refractivity (MR) constant and those of others relied on hydrophobic parameters (π and $\log P$). For increasing fungicidal activity against RPC and SBC, the optimum values of the sigma (σ) and field (F) constants as electron withdrawing groups were 0.32 and 0.18, respectively.

*Corresponding author (Fax: +82-42-825-3306, E-mail: ndsung@hanbat.chungnam.ac.kr)