

# 고추역병균에 대한 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체의 살균활성에 관한 비교분자 유사성 지수분석(CoMSIA)과 홀로그램 구조-활성 관계(HQSAR)

성낙도\* · 김기현<sup>1</sup>

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, <sup>1</sup>유성화연테크(주) 연구실

**요약** : Metalaxyl 살균제 저항성(RPC)과 감수성(SPC) 고추역병균주(*Phytophthora capsici*)들에 대한 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체들의 살균활성을 비교분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 과 홀로그램 구조-활성 관계(HQSAR) 방법으로 분석하였다. 두 균주의 살균활성에 대한 PLS 계산결과, 교차 확인값( $q^2$ ) 과 Pearson 상관계수( $r^2$ ) (CoMSIA: RPC;  $q^2=0.675$ ,  $r^2=0.942$ , SPC;  $q^2=0.350$ ,  $r^2=0.876$  및 HQSAR: RPC;  $q^2=0.519$ ,  $r^2=0.869$ , SPC;  $q^2=0.483$ ,  $r^2=0.990$ )를 비교한 바, 두 방법 모두 양호한 분석 결과를 나타내었다. 그리고 CoMSIA 등고도로부터 특히, RPC에 대한 선택적인 살균활성 요소는 phenoxy-기의 meta, para(C1-C6) 위치에 소수성이 작고 입체적으로 크지 않은 H-결합 받개가 치환 될 경우이었으며 CoMSIA 보다는 HQSAR 방법이 높은 예측성을 나타내었다. (2002년 7월 2일 접수, 2002년 9월 30일 수리)

**Key words** : 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolones, *Phytophthora capsici*, CoMSIA (Comparative molecular similarity indices analysis), HQSAR (Hologram quantitative structure activity relationship), PLS (Partial least squares regression).

## 서 론

Isothiazol-3-one 유도체들의 2-octyl 및 5-chloro 치환체들은 식물생장 조절제와 농업용 살균제로는 물론, 화장품 및 피혁가공 등의 다양한 용도로(Pain 등, 1984) 이용되고 있는 화합물이다. 그중에서 3-phenoxyisoxazole 및 3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one 유도체들은 고추 역병균에 대하여 유의할만한 수준의 살균활성을 나타낼 뿐만 아니라, 활성에 미치는 2차원 구조-활성관계(2D QSAR) (성 등, 2001)와 비교 분자장 분석(CoMFA) (성 등, 2002)에 관한 검토가 이루어 졌다.

본 연구에서는 metalaxyl 살균제 Gerritsms 등, 1988)에 대하여 저항성(RPC)을 나타내는 고추역병균주 (*phytophthora capsici*) (Erwin 등, 1996) 만을 선택적으로 방제할 수 있는 살균제를 탐색하기 위하여 시

도된 바가 없는 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체들의 살균활성에 대한 홀로그램(H) QSAR (Heritage 등, 1999)과 새로운 3D QSAR 방법인 비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA) (Klebe 등, 1994) 방법으로 정량적인 구조와 살균 활성과의 관계를 검토 하였다.

## 재료 및 방법

Metalaxyl 저항성(RPC; 95CC7303)과 감수성(SPC; 95CC7105) 고추 역병균주(*phytophthora capsici*)들에 대한 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체(김, 2001)들의 살균활성( $pl_{50}$ ) 값은 전보의 자료(성 등, 2001)를 활용하였다. 그리고 분자 모델링과 부분최소자승(PLS) 회귀분석(Stahle 등, 1988)은 Sybyl (Tripos) 프로그램 (Ver. 6.8) 중 CoMSIA와 HQSAR module을 이용하여 Silicon Graphic O<sub>2</sub> (R10000Sc) Workstation 컴퓨터로 계산하였다.

\*연락처

### 분자의 최적화 및 정렬

CoMSIA를 실행하기 위하여 CoMFA를 계산하는 경우와 같이 GA(Genetic algorithm) 방법(David 등, 1994)을 이용하여 기질 분자내 단일결합의 회전에 의한 이면각의 변화에 따른 가장 낮은 전체 에너지를 가지는 안정한 형태를 최적화 하였다. 리간드의 입체장(Lennard-Jones potential)과 정전기장 (Gasteiger-Huckel charge)을 계산하기 위하여 리간드를 2Å 간격으로 전하, +1의 C(sp<sup>3</sup>) probe atom이 18x20x22 Å 크기로 배열된 3D 공간에 놓고 다양한 격자점에서 입체적, 소수성적 및 정전기적인 상호작용(cut off energy: 30 Kcal/mol)에 대하여 CoMSIA field를 Sybyl CoMSIA module로 계산하였다. 기질 분자들은 비 치환체인 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone, 1 을 기준으로 겹침 법칙에 따라 atom by atom fit 방법으로 정렬하고 PLS 계산을 실시하였다.

### CoMSIA 분석

비교분자 유사성 지수분석(Dean, 1993)은 물리-화학적 성질과 생리 활성간의 상관성에 기초하여 기질 화합물에 대한 정전기장과 입체장의 비교를 통한 분자 설계 방법이다. 3D QSAR 방법중의 하나로서 CoMFA(Cramer 등, 1993)는 3차원 공간에 일정한 간격으로 놓여있는 격자 원자의 입체장과 정 전기장 및 소수성장 만으로 표현된다. 그러나 CoMFA의 입체장은 CoMSIA에서 입체장과 소수성장으로 그리고 CoMFA의 정 전기장은 CoMSIA에서 정전기장과 수소결합 주계와 수소결합 받계 등, 5가지 요소로 각각 표현된다. 또한, 분자 유사성 지수(Malinowski 등, 1980)는 분자 내 모든 원자들이 격자점에서 격자의 교차점에 대칭적으로 놓여진 +1의 전하를 가지는 반경 1Å, 소수성 +1, 수소결합 주계 +1 및 수소결합 받계 +1의 탐침원자(probe atom)와 기질분자 사이의 유사성 지수를 계산하였다.

### HQSAR 분석

분자 홀로그램 QSAR은 두벌의 2차원(2D) 지문으로부터 비롯된 분자 조각(fragment) 수를 포함하는 정수의 선형 배열로서 2D 화합물의 구조적 특징들과 생물활성 사이의 예측관계를 PLS 기법으로 분석하는 방법(Lewis, 1997)이다. 설명 인자로는 분자 홀로그램의 길이(L)와 분자 조각의 크기(M:최소 및 N:최대)이

며 분자 조각을 구분하기 위하여 원자, 결합, 수소원자 및 키랄성 등이 사용된다. 홀로그램과 생물 활성간의 상관성을 계산한 PLS 계수를 공간상에 등고도로 나타냄으로서 반응점들에 대한 정보를 얻는다. PLS계산은 CoMSIA 분석 자료를 이용하여 계산에 사용된 화합물 수의 절반인 수와 그리고 사용되는 홀로그램의 길이의 절반보다 작은 수를 잠재적인 변수인 조성의 수로 사용하여 PLS 방법으로 계산된다. 그러므로 HQSAR 분석은 각 분자에 대한 구조적인 조각의 생성과 홀로그램 중에 분자 조각들의 암호화 그리고 생물활성 자료의 상관분석이 이루어지는 3가지 과정으로 이루어지며 화합물의 활성에 관련된 분자조각의 유형을 확인함으로써 기질 분자들의 활성을 예측한다.

### 부분최소 지승 분석

QSAR 관계를 추출하기 위하여 3D 공간에 정렬된 기질 분자들을 대상으로 살균 활성값(pI<sub>50</sub>)에 대하여 PLS 분석(Stahle 등, 1988) 방법을 통한 교차확인 시험(Cramer 등, 1993)은 leave-one-out과 no validation으로 자료를 분석하고 교차 확인된 q<sup>2</sup> 값으로 결과의 신빙성을 예측하여 3차원 구조에 대한 각각의 영향을 CoMFA에 대하여 기술된 방법과 같은 방식으로(성 등, 2002) 실행한다. 분석시 양호한 통계값을 얻기 위하여 5% 내외의 범위에서 유사성이 결여된 화합물(outlier)을 순차적으로 제거한 다음에 얻어지는 입체적, 정전기적 및 소수성적인 기여를 평가하고 PLS 계수를 등고도로 나타내었다. 조성의 수는 q<sup>2</sup> 값에 따라 얻어지며 q<sup>2</sup>은 예측성을 의미하는 값이고 r<sup>2</sup>은 Pearson 상관성 계수이다. 따라서 모델의 신뢰도는 이들 두 값으로 판단하되 일반적으로 q<sup>2</sup> 값은 0.5 이상이고 r<sup>2</sup>은 0.90 이상일 경우에 적합한 모델로 간주된다.

## 결과 및 고찰

두 군주, RPC 및 SPC에 대하여 기질 분자의 치환기 변화에 따라 관측된 살균활성(obs. pI<sub>50</sub>)을 위시하여 CoMSIA 및 HQSAR 방법으로 예측된 살균 활성 값(predicted activity)과 그 편차(deviation value)를 표 1에 정리하였다. 두 방법에 의한 편차가 작은 것으로 보아 이들 방법이 살균활성을 잘 설명하고 있음

Table 1. The results of the CoMSIA and HQSAR analyses, and the deviation values with fungicidal activities.

No.	Sub(X).	Obs. pI <sub>50</sub>		logP	Predicted Activity				Deviation <sup>a)</sup>			
					CoMSIA		HQSAR		CoMSIA		HQSAR	
		RPC	SPC		RPC	SPC	RPC	SPC	RPC	SPC	RPC	SPC
1	H	4.07	3.89	3.41	4.06	3.94	4.16	3.88	0.01	-0.05	-0.09	0.01
2	4-Br	4.21	4.09	4.27	4.16	4.12	4.20	4.08	0.05	-0.03	0.01	0.01
3	4-NO <sub>2</sub>	3.67	4.27	3.15	3.67	<sup>b)</sup>	3.75	4.27	0.00	<sup>b)</sup>	-0.08	0.00
4	4-Cl	4.12	4.14	4.12	4.14	4.10	4.16	4.14	-0.02	0.04	-0.04	0.00
5	4-OCH <sub>3</sub>	4.22	4.11	3.33	4.23	4.12	4.23	4.10	-0.01	-0.01	-0.01	0.01
6	4-F	4.43	3.99	3.55	<sup>b)</sup>	3.95	4.31	4.01	<sup>b)</sup>	0.04	0.12	-0.02
7	4-CH <sub>3</sub>	4.09	4.13	3.91	4.08	<sup>b)</sup>	4.07	<sup>b)</sup>	0.01	<sup>b)</sup>	0.02	<sup>b)</sup>
8	3-NO <sub>2</sub>	3.91	4.10	3.15	3.91	4.10	3.79	4.11	0.00	0.00	0.12	-0.01
9	3-F	4.19	3.97	3.55	4.14	3.96	4.28	3.97	0.05	0.01	-0.09	0.00
10	3-CH <sub>3</sub>	4.08	4.05	3.91	4.11	4.07	4.04	4.06	-0.03	-0.02	0.04	-0.01
11	2,4-Cl <sub>2</sub>	4.16	4.01	4.60	4.13	4.04	4.14	<sup>b)</sup>	0.03	-0.03	0.02	<sup>b)</sup>
12	2,4-F <sub>2</sub>	4.01	4.10	3.49	4.10	4.08	<sup>b)</sup>	4.09	-0.09	0.02	<sup>b)</sup>	0.01
13	2,6-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4.10	3.97	4.40	4.12	3.97	<sup>b)</sup>	3.97	-0.02	0.00	<sup>b)</sup>	0.00
14	2,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	3.84	3.97	4.40	<sup>b)</sup>	3.97	3.88	3.96	<sup>b)</sup>	0.00	-0.04	0.01

RPC : Metalaxyl-resistant isolate of *P. capsici* (95CC7303), SPC: Metalaxyl-sensitive isolate of *P. capsici* (95CC7105), <sup>a)</sup>The values are the difference between obs. pI<sub>50</sub> and pred. activity by CoMSIA & HQSAR, <sup>b)</sup>Outlier.

을 시사한다. 또한, 기질 화합물은 3.15~4.60 범위의 소수성을 가지는 화합물들로 농업용 살균제들이 가지는 보편적인 소수성, logP=3.0(Tanaka 등, 1995)을 유지하고 있는 화합물임을 알 수 있다.

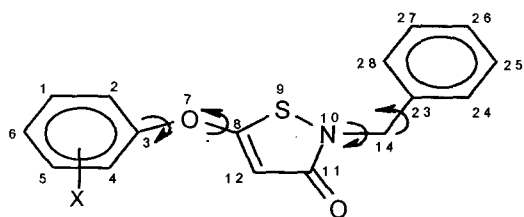


Fig. 1. Numbering scheme of heavy atoms and rotatable torsion angles of substrates, (S).

### 분자의 형태와 정렬

기질 분자의 가장 안정한 형태를 탐색하고 살균 활성에 관한 CoMSIA 분석을 실행하기 위하여 그림 1에는 분자내 원자들의 번호와 회전 가능한 단일 결합들을 나타내었다. GA 방법으로 탐색된 기질 분자의 형태는 4개의 단일결합을 회전축으로 한, 이번각이

$\angle N_{10}-C_{14}-C_{23}-C_{24}=-107.85^\circ$ ,  $\angle S_9-N_{10}-C_{14}-C_{23}=2.08^\circ$ ,  $\angle C_{12}-C_8-O_7-C_3=85.75^\circ$ ,  $\angle S_9-C_8-O_7-C_3=-90.46^\circ$  및  $\angle C_2-C_3-O_7-C_8=84.94^\circ$  이고 결합각이  $\angle C_3-O_7-C_8=113.63^\circ$ ,  $\angle O_7-C_8-S_9=127.58^\circ$ ,  $\angle N_{10}-C_{14}-C_{23}=107.40^\circ$ ,  $\angle C_{14}-N_{10}-C_{11}=119.88^\circ$  및  $\angle C_{14}-N_{10}-S_9=122.90^\circ$  일 경우에 가장 낮은 전체에너지(4.045 Kcal/mol) 를 나타내었다. 그림 2는 가장 안정한 기질 분자의 형태를 atom by atom fit로 정렬시킨 것으로 (A)는 3-isothiazolone 고리 평면에 대한 전면구조를 나타낸 것이며 (B)는 3-isothiazolone 고리 평면에 대한 측면 구조를 나타낸 것이다. 그러므로 기질 분자는 3-isothiazolone 고리에 대하여 phenoxy-기와 benzyl-기는 수직으로 배열된 형태임을 알 수 있다. 이 같은 결합 조건에서 CoMSIA 분석을 실시하여 구한 PLS 결과와 살균 활성에 따른 입체장, 정 전기장 및 소수성장 등의 기여도(%)를 표 2에 정리하였다.

### CoMSIA 분석

CoMSIA는 분자의 유사성 지수(Meyer 등, 1991)를 분석하여 예측 결과를 얻는 것으로 CoMFA와 CoMSIA에서의 field contribution은 유사하다.

기질 유도체들의 두 군주에 미치는 항균활성에 대

한 CoMSIA 및 HQSAR 분석 결과를 표 2에 정리하였다. CoMSIA의 경우, 분석에서 제외된 분자(outlier)는 RPC의 경우에 4-fluoro-치환체, 6 및 2,4-dimethyl-치환체, 14 그리고 SPC의 경우에는 4-nitro-치환체, 3 및 4-methyl-치환체, 7 등, 균주당 각각 2개의 화합물이었다. 이 조건에서 3차원 공간에 일정한 간격으로 놓여 있는 격자 원자와의 정 전기장과 입체장과의 상호작용 관계에 대한 PLS 분석을 통하여 RPC와 SPC에서의 항균활성에 대한 Pearson 상관계수,  $r^2$  값이 가장 높은 모델로 RPC;  $r^2=0.942$  및 SPC;  $r^2=0.876$ 을 선정하였으며 이때 조성의 수는 각각 RPC; 3 및 SPC; 4 이었다. 그리고 교차확인 방법으로 leave-one-out을 실행하고 no validation으로 자료를 검토한 결과, RPC에서는 교차확인 된 예측성이  $q^2=0.675$ 이고

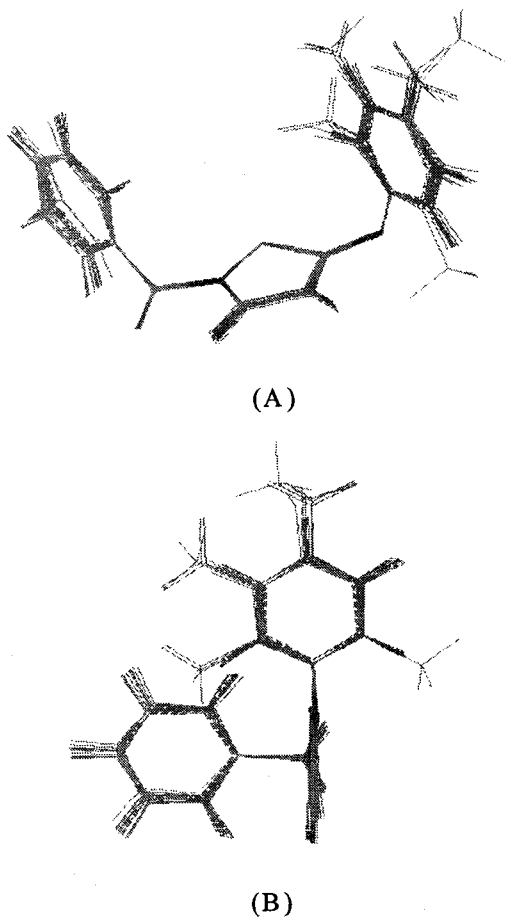


Fig. 2. Stereodiagram (A: front view & B: side view) of the structural superposition of potential energy minimized structures according to a least-squares atom by-atom fit.

Table 2. Summary of the results of the CoMSIA and HQSAR analyses

Statistics & RC <sup>b)</sup> (%)	CoMSIA		HQSAR	
	RPC	SPC	RPC	SPC
n <sup>a)</sup>	12	12	12	12
Outlier <sup>b)</sup>	2	2	2	2
cn <sup>c)</sup>	3	4	2	6
q <sup>2d)</sup>	0.675	0.350	0.519	0.483
r <sup>2e)</sup>	0.942	0.876	0.869	0.990
s <sup>f)</sup>	0.043	0.034		
F	43.573	12.331		
Fragment			4~7	4~9
H-Atom			on	on
Best length			59	53
Steric	1.90	4.10		
Electrostatic	34.8	49.6		
Hydrophobic	38.6	42.9		
H-bond Acceptor	24.7	3.40		
H-bond Doner	0	0		

<sup>a)</sup>Number of compounds in data set, <sup>b)</sup>(CoMSIA:RPC; 6, 14, SPC; 3, 7, HQSAR:RPC; 12, 13, SPC; 7, 11), <sup>c)</sup>Number of components, <sup>d)</sup>Cross-validated  $q^2$ , <sup>e)</sup>Conventional  $r^2$ , <sup>f)</sup>Standard error, <sup>g)</sup>Relative contribution.

SPC에서는  $q^2=0.350$ 으로 각각 계산되었다. 이상과 같은 분석결과, SPC는 살균활성을 87.6% 설명하는 수준으로 다소 신뢰성이 낮은 반면에 RPC는 94.2%를 설명하는 정도로 신뢰성이 매우 양호한 모델로 판단되었다.

한편, 두 균주에 대한 CoMSIA field의 상대적인 기여도(%)는 다음과 같다. 즉, RPC의 경우에는 정전기장, 34.8%, 소수성장, 38.6% 및 입체장이 1.9% 그리고 SPC에서는 정전기장, 49.6%, 소수성장, 42.9% 및 입체장이 4.1% 이었다. 따라서 두 경우 모두 정전기장과 소수성장이 거의 1:1의 비율로 비슷한 반면에 입체장은 정전기장과 소수성장에 비하여 상대적으로 매우 작은 경향이였다. 또한, 기질 분자는 H-결합 주계로서의 기여는 없는 반면에 H-결합 받게로서의 기여 정도는 균주에 따라 다르게 나타났다. 즉, RPC의 경우에 H-결합 받게로서의 기여 정도는 24.7% 인 반면에, SPC의 경우에는 3.4%이었으므로 SPC보다

RPC가 1:8의 비율로 기여 정도가 큰 경향을 보였다.

이상과 같은 CoMSIA 모델로 두 균주에 대하여 예측된 살균 활성값(pred.)과 관측된 살균활성 값 (obs.)을 비교 한(표 1) 결과, 두 값과의 차이(dev.)가 매우 작았을 뿐만 아니라, 한 예로 RPC의 경우, 이들 두 값들 사이의 관계(그림 3)가 거의 일직선상에 일치하므로 CoMSIA 분석 결과가 고추 역병균의 살균활성 관계를 잘 설명함을 알 수 있었다.

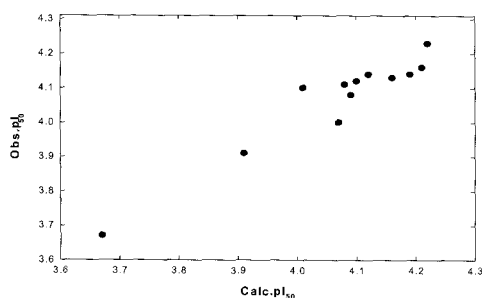


Fig. 3. Relationships between observed  $pI_{50}$  values against RPC of 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone derivatives and predicted values by the CoMSIA

### HQSAR 분석

두 균주의 살균활성에 대한 HQSAR 분석 조건은 표 2와 같다. PLS 계산시에 제외된 화합물 (outlier)은, RPC의 경우에 2,4-difluoro-치환체, 12 및 2,2-di-methyl-치환체, 13 그리고 SPC의 경우에는 4-methyl-치환체, 7 및 2,4-dichloro-치환체, 11 등, 균주 별 2개의 화합물이었다. 또한, 수소원자가 존재하는 (H-atom: on) 조건에서 분자 조각은 4~9 범위이었고 가장 좋은 길이는 53~59Å 이었다. 이 조건에서 계산된 교차 확인된 예측성( $q^2$ )과 Pearson

상관계수( $r^2$ )는 RPC:  $q^2=0.519$ ,  $r^2=0.869$  및 SPC:  $r^2=0.990$  및  $q^2=0.483$  이었다. 따라서 RPC는 살균활성을 87% 설명하는 정도이나 SPC는 99%를 설명하는 정도로 신뢰성이 높은 모델로 판단되었다.

위와 같은 HQSAR 모델로 두 균주에 대하여 계산된 살균 활성값(calc.)과 관측된 살균활성 값(obs.)을 비교 한(표 1) 결과, 두 값과의 차이(dev.)가 매우 작으므로 HQSAR 분석 결과가 고추역병균의 살균활성 관계를 잘 설명하고 있다.

### 등고도 분석

두 균주에 대하여 측정된 살균 활성을 CoMSIA 분석한 결과로부터 얻어진 그림 4는 입체장, 정전기장 및 소수성장을 나타낸 등고도이다. 살균활성을 증가시킬 수 있는 조건으로 RPC의 경우에는 phenoxy 고리상 meta( $C_1$ ) 부근은 입체적으로 크지 않아야 하며 meta, para( $C_1$ - $C_6$ ) 위치는 소수성이 작아야 하고 그리고 para( $C_6$ ) 위치는 양하전이어야 할 것이다. 그리고 SPC의 경우에는 benzyl-기상 meta, para ( $C_{25}$ - $C_{26}$ ) 위치는 입체적으로 큰 치환기가 요구되며 phenoxy 고리상 meta, para( $C_1$ - $C_2$ ) 위치는 소수성이 증가되어야 하고 meta, ( $C_1$ ) 위치는 양하전이 그리고 3-isothiazolone 고리의 carbonyl 산소 원자는 음 하전이 클수록 활성이 증가 할 것이다.

한편, 앞서 설명한 바와 같이, 기질 분자는 H-결합 주계로서의 기여는 없었으나 H-결합 받게로서의 기여 정도는 균주에 따라 달랐다. H-결합 받게는 H-결합에 필요한 전자를 일방적으로 제공함으로써 이루어지는 B-형의 H-결합인  $\pi$ -complex(Gilliom, 1970)을 생성하는 작용기를 의미한다. 따라서 그림 5는 H-결합 받게에 관한 등고도로서 RPC의 경우에 phenoxy-기상 meta( $C_1$ - $C_5$ ), para( $C_6$ ) 부근엔 H-결합 받게가 있을수록 활성에 기여할 것으로 예측되었다. 그러나 SPC의 경우에는 N-benzyl-기의 ortho( $C_2$ ) 부근에 H-결합 받

Table 3. Predicted and observed  $pI_{50}$  values against two fungi for outlier compounds

Fungi	No.	CoMSIA				No.	HQSAR			
		Sub(X)	Obs.	Pred. <sup>a)</sup>	Dev.		Sub(X)	Obs.	Pred. <sup>a)</sup>	Dev.
RPC	6	4-F	4.43	4.14	0.29	12	2,4-F <sub>2</sub>	4.01	4.41	-0.40
	14	2,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	3.84	4.12	-0.28	13	2,6-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4.10	3.90	0.20
SPC	3	4-NO <sub>2</sub>	4.27	4.24	0.03	7	4-CH <sub>3</sub>	4.09	4.09	0.00
	7	4-CH <sub>3</sub>	4.13	4.02	0.09	11	2,4-Cl <sub>2</sub>	4.16	4.18	-0.02

<sup>a)</sup>Calculated according to the two models in Table 2 with atom fit alignment., Dev=Obs-Pred.

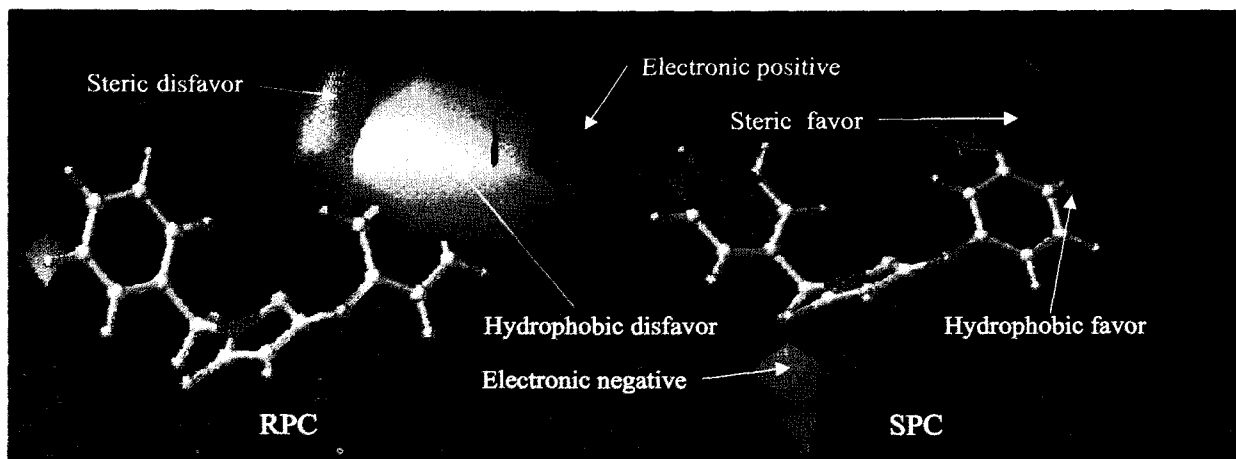


Fig. 4. Steric, electrostatic and hydrophobic contour map from CoMSIA model for the fungicidal activators of RPC and SPC.

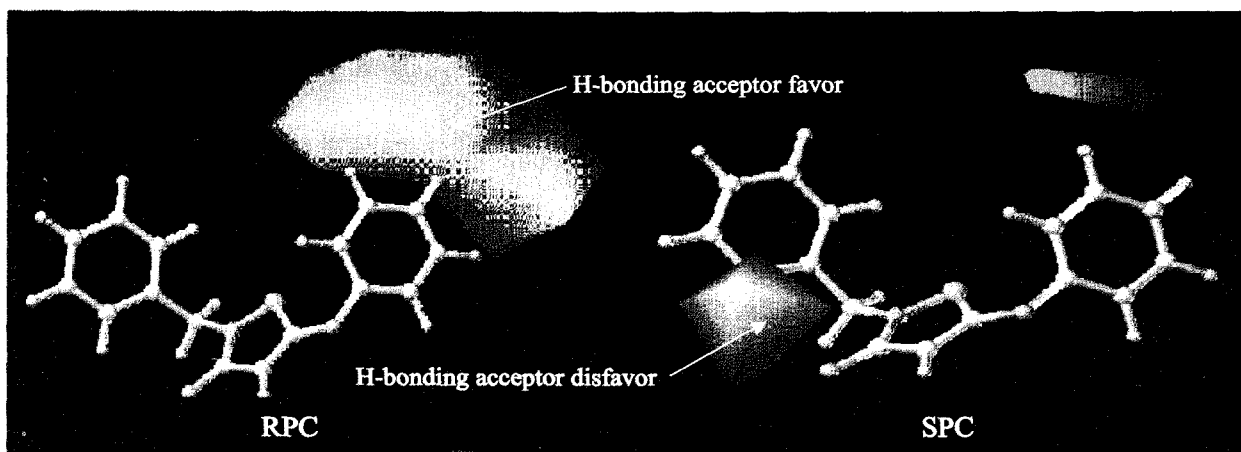


Fig. 5. Hydrogen bonding contour map from the CoMSIA model for the fungicidal activators of SPC and RPC.

계가 존재하지 않을수록 그리고 phenoxy-기의 meta (C<sub>1</sub>) 위치는 약한 H-결합 받개가 있을수록 활성이 증가 할 것임을 나타내었다. 또한, S 원자 인접의 phenoxy-기 부분은 소수성이 낮고 입체적으로 작은 H-결합 받개로 작용 할 것으로 예상된다. 이상과 같은 검토 결과로부터 특히, RPC에 대한 선택성 요소로는 phenoxy-기의 meta, para(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) 위치에 소수성이 작고 입체적으로 크지않은 H-결합 받개가 치환 될 수록 살균활성이 증가 할 것으로 기대된다.

#### 화합물의 예측

먼저, CoMSIA에서 분석한 동일한 조건에서 PLS 계산을 실시하여 나타낸 등고도를 근거로 여기에서 다루지 않은 화합물(unknown)들을 설계하였다. 설

계된 화합물을 atom by atom fit으로 정렬시키고 기존 CoMSIA PLS table에 첨가시킨 다음에 CoMSIA와 HQSAR module로 각각 예측하였다. 표 3에는 분석시 제외된 화합물(outlier)들의 살균활성에 대한 예측값들을 정리한 것으로 관측값과 예측값의 편차가 대체로 적음으로 두 모델이 적합함을 알 수 있다. 그리고 표 4에는 2가지 방법으로 여기에서 다루지 않은 화합물중에서 살균 활성값이 높게 예측된 일련의 화합물들에 대한 살균활성 값들을 정리하였다.

설계된 화합물 중, RPC에서는 CoMSIA로 예측한 R1( $pI_{50}=4.24$ )이 그리고 HQSAR로 예측한 것 중에서는 R6( $pI_{50}=4.70$ )이 가장 높은 살균활성이 예측되었다. 따라서 RPC에서 R1, R2는 HQSAR 보다 CoMSIA 결과

가 높은 살균활성이 나타날 것으로 예측되었으나 그 이외에는 반대의 경향이였다. 또한, SPC에서는 CoMSIA로 예측한 S1, S2 및 S4( $pI_{50}$ =4.20~4.21)가 높은 예측값을 보였으나 HQSAR로 예측한 것 중에서 S5( $pI_{50}$ =5.45)는 가장 높은 예측값을 보였다. 그러므로 2 가지 방법으로 예측된 값들의 편차로부터 CoMSIA 보다는 HQSAR 방법에 의한 예측 결과가 높은 살균 활성값을 나타내는 경향이였다.

이와 같이 CoMSIA 등, 3D QSAR 방법들은 2D QSAR(Kubinyi, 1993) 및 HQSAR 방법

**Table 4. Predicted fungicidal activities ( $pI_{50}$ )<sup>a)</sup> by the two methods of unknown compounds**

Fungi No.	Sub(X)	CoMSIA	HQSAR	Dev.
RPC	R1 4-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4.24	4.15	0.09
	R2 3-F, 4-OCH <sub>3</sub>	4.23	4.20	0.03
	R3 <sup>b)</sup> CH <sub>2</sub> -CF <sub>3</sub>	4.06	4.47	-0.41
	R4 <sup>b)</sup> CO <sub>2</sub> COCl	4.22	4.50	-0.28
	R5 4-CH <sub>3</sub> S	4.18	4.63	-0.45
	R6 4-OPO <sub>3</sub> H	3.83	4.70	-0.87
SPC	S1 3-CH <sub>3</sub> , 4-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	4.20	4.79	-0.59
	S2 3-CH <sub>3</sub> , 4-CF <sub>3</sub>	4.21	4.24	-0.03
	S3 3-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , 4-CH <sub>3</sub>	4.04	4.77	-0.73
	S4 3-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 4-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	4.20	5.12	-0.92
	S5 <sup>b)</sup> CH <sub>2</sub> -CH=CH-CH <sub>2</sub> -C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	4.03	5.45	-1.42

<sup>a)</sup>Calculated according to the two model in Table 2. with atom fit alignment., <sup>b)</sup>The substituent was bonded to the oxygene atom (O<sub>7</sub>) in stead of phenyl group., Dev=CoMSIA-HQSAR.

(Heritage 등, 1999) 등에 비하여 비교 우위적으로 양호한 개념이 아니라, 상호 보완적이고 각 경우마다 장단점(Kim, 1993)을 가지고 있으며 얻을 수 있는 정보도 또한 다르다.

## 감사의 글

본 연구는 2002년도 농과계 특성화 대학(인삼, 과채류) 시설지원(Computer software) 보조금에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Cramer, R. III., D. E. Patterson and J. D. Bunce (1993) Comparative Molecular Field analysis (CoMFA) I. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins, *J. Am. Chem. Soc.*, 110:5959~5967.
- Cramer, R. D. III., J. D. Bunce, D. E. Patterson and I. E. Frank, (1988) Cross-validation, bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. *Quant. Struct. Act. Relat.* 7: 18~25.
- David, R. and A. J. Hofinger (1994) Application of genetic function approximation to quantitative structure-activity relationships and quantitative structure-property relationships. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 34: 854~866.
- Dean, P. M. (1993) Molecular similarity. pp. 150~172, *In* 3D QSAR Drug Design. Theory, Methods and Applications. (ed. Kubinyi, H.) ESCOM, Leiden.
- Erwin, D. C. and O. K. Ribeiro (1996) *Phytophthora Diseases World-Wide*. The American Phythopathological Society, APS Press, St. Paul
- Gilliom, R. D. (1970) *Introduction to Physical Organic Chemistry*, Ch. 12., Addison-Wesley Pub. Co.
- Gerritsms, O. C. M., J. Ideler, K. Pie and G. C. M. Velthuis, (1988) Antifungal modes of action of metalaxyl, cyprofuram, benalaxayl and oxadixyl in phenyl amide-sensitive and phenylamide resistance strains of *phytophthora megaspermas* f. sp. medicaginis and *phytophthora infestans*, *Crop. Prot.* 7: 347~355.
- Heritage, T. W. and D. R. Lewis (1999) Molecular hologram QSAR. Ch.4, *In* Rational Drug Design: Novel Methodology and Practical Applications (ed. Parrill, A. L. and Reddy, M. R.), ACS Symposium Series 719. American Chemical Society, Washington, DC.
- Kim, Ki H. (1993) Comparison of classical and 3D QSAR. pp. 619-642, *In* 3D QSAR Drug Design. Theory, Methods and Applications. (ed. Kubinyi,

- H.) ESCOM, Leiden.
- 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.
- Kubinyi, H. (1993) QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. Ch. 3~5., VCH, New York.
- Lewis, D. R. (1997) HQSAR. A New, highly predictive QSAR technique. *Tripos Technical Notes*, Vol. 1, No. 5.
- Pain, D. L., B. J. Peart and K. R. H. Wooldridge (1984) Isothiazoles and their benzo derivatives, pp.173, *In Comprehensive Heterocyclic Chemistry, The Structure, Reactions, Synthesis and Uses of Heterocyclic Compounds.*(ed. Katritzky, A. R. and W. Rees. Charles) Vol. 6, Pergamon Press. Oxford.
- Malinowski, E. R. and D. G. Howery (1980) *Factor Analyses in chemistry*, Wiley, New York.
- Meyer, A. Y. and W. G. Richards (1991) Similarity of molecular shape, *J. Computer-Aided Mol. Design.* 5: 427~439.
- Stahle, L. and S. Wold. (1988) Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research. *Progr. Med. Chem.* 25: 292-334.
- Tripos: Sybyl programe., 1699 South Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO. 63144, USA.
- Tanaka, S., M. Takahashi,, Y. Funaki, K. Izumi, H. Takano and M. Miyakado (1995) Hydrophobicity and Systemetic Activities of Fungicidal Triazoles and Bleaching Herbicidal Compounds. Ch. 8., pp. 114, *In Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry*(ed. Hansch, C. and T. Fujita). ACS Symposium Series 606., American Chemical Society, Washington, DC.
- 김기현 (2001) 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체의 합성과 항균활성에 관한 2D 및 3D 구조-활성 관계, 충남대학교 대학원, 석사학위 논문.
- 성낙도, 김기현 (2001) 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone 유도체의 살균활성에 미치는 치환-phenoxy 기의 영향, *한국농약과학회지* 5(3): 36~40.
- 성낙도, 이희철 (2002) 고추 역병균에 대한 3-phenoxyisoxazole과 3-phenyl-2,5-dihydroisoxazol-5-one 유도체들의 살균활성에 관한 비교 분자장 분석 (CoMFA), *한국농약과학회지* 6(2):72~79.



---

**Comparative molecular similarity indices analyses (CoMSIA) and hologram quantitative structure activity relationship (HQSAR) on the fungicidal activity of 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone derivatives against phytophthora blight fungus.**

Nack-Do Sung\* and Ki-Hyun Kim<sup>1</sup> (Division of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea., <sup>1</sup>Yoo-Sung Chem. R & T. Co., Ltd. 162, Sangseo-Dong Daeduk-Ku, Daejeon 306-120, Korea)

**Abstract :** Two different QSAR methods, the comparative molecular similarity indices analyses (CoMSIA) and hologram quantitative structure activity relationship (HQSAR) are studied for the fungicidal activities ( $pI_{50}$ ) of 2-N-benzyl-5-phenoxy-3-isothiazolone derivatives against sensitive (SPC: 95CC7105) and resistant (RPC: 95CC7303) phytophthora blight fungus (*Phytophthora capsici*). According to the findings from these QSAR investigation, the cross-validation value,  $q^2$  and Pearson correlation coefficient,  $r^2$  in the two methods were CoMSIA: RPC;  $q^2=0.675$ ,  $r^2=0.942$ , SPC;  $q^2=0.350$ ,  $r^2=0.876$  and HQSAR: RPC;  $q^2=0.519$ ,  $r^2=0.869$ , SPC;  $q^2=0.483$ ,  $r^2=0.990$ , respectively. Therefore, the two models of comparative statistical significance were obtained. From the CoMSIA contour maps, the important factors for selective fungicidal activity against RPC are to be expected that the lower hydrophobic and not bulkiness substituent as hydrogen bonding acceptor have to introduce to meta and para-position (C1-C6) on the phenoxy moiety. And the results of prediction suggest that HQSAR method showed higher fungicidal activity than CoMSIA method.

---

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