

잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 대한 *N*-Phenyl-*O*-phenylthionocarbamate 유도체들의 살균활성에 관한 3D-QSAR 분석

성낙도*·박기한¹·장석찬·성민규²

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹바이엘크롭사이언스(주) 인사지원팀, ²펩트론(주) 중앙연구소
(2007년 5월 3일 접수, 2007년 6월 8일 수리)

3D-QSAR Analysis on the Fungicidal Activity of *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate Analogues against Gray Mold (*Botrytis cinerea*)

Nack-Do Sung,* Kee-Han Park¹, Seok-Chan Jang and Min-Kyu Soung²(*Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea, ¹Bayer CropScience Ltd. Human resources, Yeoksamdong, Seoul 135-080, Korea., ²Peptron Inc. Reasearch Institute, Doryondong, Daejeon 305-340, Korea.*)

Abstract : Three dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSARs) on the fungicidal activity of *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate analogues against resistant and sensitive gray mold (*Botrytis cinerea*) (RBC & SBC) were studied quantitatively using CoMFA and CoMSIA methods. The correlation coefficient and predict-ability of optimized CoMFA model with the atom based fit alignment were better (r^2 & q^2 =CoMFA \gg CoMSIA) than that of CoMSIA model. And statistical values of the models on the fungicidal activity against SBC were showed higher (r^2 =SBC \gg RBC) than that of RBC. In CoMFA models, steric field on the activity was more influenced than electrostatic field. And in case of CoMSIA models, the influence of CoMSIA field on the activity against RBC and SBC was differ from each other but the influence of H-bond donor field was same to the two fungi. It is revealed that the selectivity factor with CoMFA model on the fungicidal activity between the two fungi was caused on the difference of steric field. Therefore, it is predicted that the large steric field with meta- and para-substituents on the *N*-phenyl ring will be improved to the fungicidal activity with SBC.

Key words : *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate analogues, Resistant & Sensitive gray mold (*botrytis cinerea*), fungicidal activity, CoMFA & CoMSIA.

서론

잣빛곰팡이균(*Botrytis cinerea*)은 전 세계적으로 많은 작물에 피해를 입히는 병원균으로 (Rosslensbroich와 Stuebler, 2000) 1990년대 중반 이후에 우수한 살균 활성을 갖는 새로운 화합물들이 상업화되었다. 이 중에서 carbamate계 화합물은 농업용 살균제를 비롯한 살충제 및 제초제로서 다양하게 사용되고 있으며 침

투성이 우수하여 대체로 높은 활성을 나타낸다. 그러나 포유류에 독성을 나타내므로(Li 등, 2007) 독성을 낮추기 위한 노력으로 formamidine-S-carbamate(Eya와 Fukuto, 1986) 및 biscarbamoyl sulfide 유도체들이 연구되었다(Fahmy 등, 1978). 그리고 현재 우리나라에서는 XMC, metolcarb, BPMC, propoxur 및 isoprocarb 등이 많이 사용되고 있다(Kim 등, 2002). 이러한 살균제들은 여러 종의 다양한 식물 병원성 균들에 대하여 강력한 살균 활성을 보였으나 장기간 사용으로 저항성을 갖는 병원균들이 나타나 새로운 약제의 개발이

* 연락처 : Tel : +82-42-821-6737, Fax: +82-42-825-3306,
E-mail: ndsung@cnu.ac.kr

요구되고 있다.

새로운 형태의 화합물을 탐색하기 위한 시도의 일환으로 benzimidazole계 *N*-phenylthionocarbamates 화합물들의 살균활성에 관한 QSAR 모델에 관하여 연구된 바(Albores-Velasco와 Wain, 1995) 있었다.

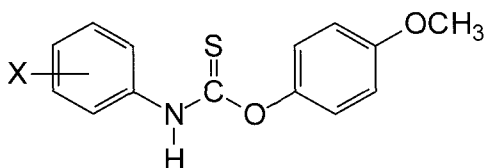
Pyridylcarbamates에 의한 benzimidazole 감수성 및 저항성 잣빛곰팡이균에 대한 QSAR와 분자 모델링이 연구되었으며(Akagi 등, 1995) alkyldithiocarbamates 중 금속염의 균독성효과가 산성에 기인한다는 사실을 발표하기도 하였다(Humeres 등, 1997). 또한, 저자들에 의하여 *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamates 화합물들의 벼잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*) 및 고추역병균(*Phytophthora capsici*)에 대한 살균활성에 미치는 정량적인 구조와 활성과의 관계(Sung 등, 1999; 2006)가 검토되기도 하였다.

본 연구에서는 저항성 및 감수성 잣빛곰팡이균에 대한 3차원적인 정량적 구조와 활성과의 관계(3D-QSAR) (Kyubinyi, 1993)에 기초한 비교분자장 분석(ComFA) (Cramer 등, 1988a)과 비교분자 유사성지수 분석(ComSIA) (Klebe 등, 1994) 모델을 유도하고 두 균주의 살균활성에 대한 선택성 요소를 검토하였다.

재료 및 방법

3D-QSAR 모델의 유도

기질 분자로서 *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate 유도체(그림 1)들의 *N*-phenyl 고리상 치환기(X) 변화에 따르는 저항성 잣빛곰팡이균 (RBC: resistant *Botrytis cinerea*)과 감수성 잣빛곰팡이균(SBC: sensitive *Botrytis cinerea*)에 대한 살균 활성관계를 검토하기 위한 활성 값은 전보(Sung 등, 1999)의 자료를 활용하였다. ComFA 및 ComSIA 모델의 유도는 Sybyl 분자 모델링(Tripos, 2007) 프로그램(Ver. 7.1)으로 RBC (n=15) 그리고 SBC (n=17)에 대하여 각각 실행하였으며 양호한 통계값을 나타내는 모델을 얻기 위하여 상관성이



X=Various substituents (1~20)

Fig. 1. General structure of *N*-phenyl-*O*-phenylthionocarbamate derivatives as substrate molecule.

벗어나는 화합물을 test set에 포함시켰다. 균주별 ComFA 및 ComSIA 모델은 전보 (Sung 등, 2006)와 같은 조건과 과정으로 유도되었다.

정렬의 한 예로, 그림 2는 atom based fit 정렬을 보여주고 있으며 입체적으로 분자 사이의 중첩에서 벗어난 *N*-phenyl 고리 상, 치환기(X)들의 변화에 따라 항균활성이 차별화되어 나타나게 된다.

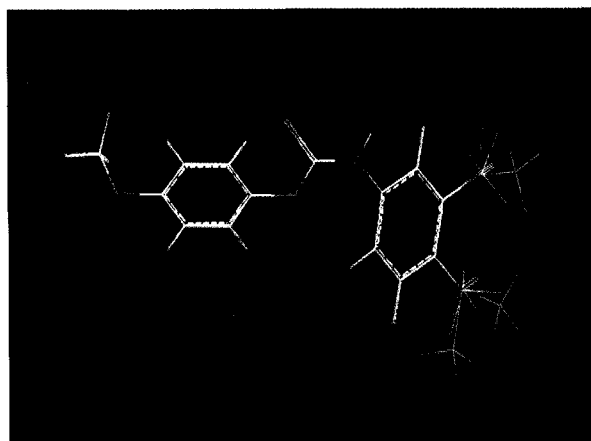


Fig. 2. Alignment of the potential energy minimized substrate structures according to a least-squares atom based fit.

부분 최소자승 분석

ComFA 장으로 표준장(S), 지시장(I) 및 소수성장(H) (Kellog 등, 1991) 그리고 ComSIA 장으로는 입체장(S), 정전기장(E) 및 소수성장(H) 뿐만 아니라, 수소결합 주계장(D)과 받게장(A) 등, 5가지 ComSIA장의 조합으로 구성된 모델을 유도하고자 3차원 공간상에 atom based fit 방식으로 정렬된 화합물들의 구조적 특징에 관한 설명인자와 생물 활성간의 상관관계를 부분 최소자승(PLS) 법(Cramer 등, 1998b)으로 계산하였다. 또한, 최적의 주성분 수를 결정하기 위하여 LOO (leave-one-out) cross-validated 과정을 실행하여 예측성(q^2 또는 r_{cv}^2)과 최적의 성분수를 탐색하였다. 이를 근거로 non cross-validation 과정으로 상관성(r_{ncv}^2)값은 다음 조건으로(Scaling: ComFA standard 및 column filtering: 2.0 kcal/mol) 얻었다.

3D-QSAR 등고도 분석

유도된 ComFA 및 ComSIA 모델들의 정보에 따른 기질 분자내 살균활성 발현 부위에 대한 구조적인 특징들을 시각적으로 분석하기 위하여 최적화 된 3D-QSAR 모델이 가지고 있는 ComFA 및 ComSIA

Table 1. Observed fungicidal activity (Obs.pI₅₀) against RBC & SBC and predicted fungicidal activity (Pred.pI₅₀) by the optimized CoMFA and CoMSIA models using atom based fit alignment

No.	Sub.(X)	Obs.pI ₅₀	RBC				Obs.pI ₅₀	SBC			
			CoMFA		CoMSIA			CoMFA		CoMSIA	
			Pred. ^{a)}	Dev. ^{c)}	Pred. ^{b)}	Dev. ^{c)}		Pred. ^{a)}	Dev. ^{c)}	Pred. ^{b)}	Dev. ^{c)}
1	3-CH ₃	4.80 ^{d)}	-	-	-	-	3.70	3.72	-0.02	3.71	-0.01
2	3-CF ₃	4.19	4.15	0.04	4.16	0.03	3.83 ^{d)}	-	-	-	-
3	3-CN	4.16	4.16	0.00	4.23	-0.07	4.15	4.07	0.08	4.19	-0.04
4	3-OH	4.44	4.44	0.00	4.47	-0.03	4.42	4.40	0.02	4.22	0.20
5	3-OCH ₃	4.15	4.20	-0.05	4.15	0.00	3.63 ^{d)}	-	-	-	-
6	3-F	4.09 ^{d)}	-	-	-	-	3.78	3.83	-0.05	3.71	0.07
7	3-Cl	4.31	4.31	0.00	4.21	0.10	3.64	3.61	0.03	3.72	-0.08
8	3-Br	4.06	4.05	0.01	4.18	-0.12	3.90	3.57	0.33	3.72	0.18
9	3-NO ₂	4.70	4.71	-0.01	4.72	-0.02	3.94	3.99	-0.05	4.00	-0.06
10	4-H	4.66	4.51	0.15	4.45	0.21	3.79 ^{d)}	-	-	-	-
11	4-CH ₃	4.77	4.76	0.01	4.78	-0.01	3.71	3.80	-0.09	3.71	0.00
12	4-CF ₃	4.21 ^{d)}	-	-	-	-	3.67	3.72	-0.05	3.71	-0.04
13	4-CN	4.76	4.75	0.01	4.68	0.08	4.08	4.04	0.04	4.18	-0.10
14	4-COCH ₃	4.73	4.71	0.02	4.72	0.01	4.15	4.15	0.00	4.18	-0.03
15	4-OH	4.32 ^{d)}	-	-	-	-	4.10	4.13	-0.03	4.14	-0.04
16	4-OCH ₃	4.71	4.70	0.01	4.78	-0.07	3.67	3.64	0.03	3.70	-0.03
17	4-F	4.33	4.47	-0.14	4.50	-0.17	3.75	3.77	-0.02	3.71	0.04
18	4-Cl	4.71	4.67	0.04	4.60	0.11	3.78	3.67	0.11	3.71	0.07
19	4-Br	4.57	4.67	-0.10	4.63	-0.06	3.87	3.89	-0.10	3.71	0.16
20	4-NO ₂	4.09 ^{d)}	-	-	-	-	4.06	4.07	-0.01	4.01	0.05
Ave.(PRESS)			0.12(1.12)		0.13(0.74)			0.06(0.16)		0.07(0.14)	

Abbreviation: Ave.; average residual of training set, PRESS; Predictive residual sum of squares of the training set.,
^{a)}predicted values by the optimized CoMFA models (R3 & S4), ^{b)}predicted values by the optimized CoMSIA models (R9 & S10), ^{c)}difference of observed (obs.pI₅₀) values and predicted (pred.pI₅₀) values, ^{d)}test set compound.

장의 특성을 3차원 공간상에 등고도로 표현하였다. RBC 및 SBC 균주에 대하여 각각 가장 높은 살균활성(obs.pI₅₀)을 나타낸 3-methyl 치환체(1)와 3-hydroxy 치환체(4)를 등고도상에 나타내었다. 이 등고도의 정보에 근거하여 두 균주의 살균활성에 기여하는 구체적인 기질 분자의 구조적인 특성과 살균 활성과의 관계를 이해할 수 있었다. 여기에서 3D-QSAR 장의 favor:disfavor의 비율 (stdev*coeff)은 80:20의 비율로 각각 나타내었다.

기질 유도체들의 RBC 및 SBC, 두 병원균에 대한 살균활성(Obs.pI₅₀)값을 표 1에 정리하였다. 활성값의 범위는 RBC: 4.06~4.80 및 SBC: 3.63~4.42를 나타내었으며 RBC에 대한 살균활성이 SBC에 대한 살균활성에 비하여 효과적이었다. RBC에서는 m-methyl 치환체(1)가 최고, 그리고 m-bromo 치환체(8)가 최저의 살균활성 값을 나타내었다. SBC에서는 m-hydroxy 치환체(4)가 최고의 살균활성 값을 그리고 m-methoxy 치환체(16)가 최저의 살균활성값을 나타내었다. 유도체 별, 치환기(X)들이 변화함에 따라 RBC 및 SBC에 대하여 관측된 살균활성값(obs.pI₅₀)과 양호한 통계값을 보인 CoMFA 및 CoMSIA 모델에 의하여 예측된 활성값(pred.pI₅₀) 그리고 이들 두 값의 편차(Dev.)를 표 1에 요약하였다. RBC의 경우, 평균오차는 Ave.

결과 및 고찰

균주 별 살균활성

Table 2. Summary of statistical parameters against two fungi from CoMFA models with atom based fit alignment

Fungi	Models	CoMFA Fields ^{b)}			PLS Analyses					
		S	I	H	Grid(Å)	NC	$r^2_{cv.}$ ^{c)}	$r^2_{ncv.}$ ^{d)}	SE _{ncv.} ^{e)}	F ^{f)}
RBC	R1	✓			2.5	4	0.683	0.819	0.131	11.291
	R2		✓		1.5	1	0.611	0.733	0.139	35.664
	R3 ^{g)}	✓	✓		1.5	4	0.723	0.936	0.077	36.838
	R4	✓		✓	1.5	8	0.688	0.985	0.048	49.498
	R5	✓	✓	✓	1.5	5	0.693	0.948	0.074	33.088
SBC	S1	✓			1.0	1	0.425	0.614	0.154	20.698
	S2	✓	✓		2.5	1	0.424	0.695	0.136	29.688
	S3	✓		✓	2.0	2	0.596	0.869	0.093	39.768
	S4 ^{g)}		✓	✓	2.5	3	0.620	0.951	0.060	70.682
	S5	✓	✓	✓	2.0	2	0.548	0.897	0.083	52.018

^{a)}The optimized CoMFA models against RBC & SBC, ^{b)}S: standard field, I: indicator field, H: H-bond field, ^{c)}cross-validated r^2 , ^{d)}non-cross-validated r^2 , ^{e)}standard error estimate, ^{f)}fraction of explained versus unexplained variance.

Table 3. Summary of statistical parameters against two fungi from CoMSIA models with atom based fit alignment

Fungi	Models	CoMSIA Fields					PLS Analyses					
		S	Hy	E	A	D	Grid(Å)	NC	$r^2_{cv.}$	$r^2_{ncv.}$ ^{d)}	SE _{ncv.} ^{e)}	F ^{f)}
RBC	R6	✓					2.0	5	0.375	0.765	0.157	5.872
	R7		✓				1.5	4	0.584	0.829	0.127	12.140
	R8		✓				2.0	6	0.523	0.880	0.119	9.742
	R9 ^{g)}	✓		✓		✓	1.5	3	0.600	0.859	0.110	22.376
	R10	✓		✓		✓	2.0	3	0.654	0.802	0.130	14.887
SBC	S6	✓					2.0	2	-0.271	0.207	0.229	1.563
	S7			✓			2.5	1	-0.140	0.058	0.240	0.806
	S8		✓				2.0	1	-0.034	0.119	0.232	1.755
	S9				✓		1.5	4	0.128	0.972	0.047	85.683
	S10 ^{g)}		✓		✓	✓	2.5	2	0.785	0.900	0.082	53.707

^{a)}The optimized CoMSIA models against RBC & SBC, ^{b)}S: steric field, E: electrostatic field, Hy: hydrophobic field, A: H-bond acceptor field, D: H-bond donor field., ^{c)}cross-validated r^2 , ^{d)}non-cross-validated r^2 , ^{e)}standard error estimate, ^{f)}fraction of explained versus unexplained variance.

=0.12 및 PRESS=1.12 그리고 SBC에서는 Ave.=0.06 및 PRESS= 0.16이었다. 이로부터 SBC에 대한 모델이 RBC에 대한 모델보다 양호한 모델임을 잘 설명하고 있다.

RBC에 대한 모델

RBC에 대한 살균활성을 설명하기 위하여 CoMFA 장의 조합과 grid의 범위(1.0~3.0Å)에 따라 유도된 CoMFA 모델들의 통계값을 표 2에 정리하였다. RBC에 대한 모델들(R1~R5)의 예측성은 $r^2_{cv.}$ (q^2)=0.611~

0.723이고 상관성은 $r^2_{ncv.}$ =0.735~0.985이었다. RBC의 경우, 가장좋은 R3 모델은 grid 1.5Å에서 표준장(S)과 지시장(I)이 조합되었을때 예측성이 $r^2_{cv.}$ (q^2)=0.723, 상관성이 $r^2_{ncv.}$ =0.936이었으며 표준편차, SEE_{ncv.}=0.077, 최적의 성분수는 4이었다. 이때 CoMFA장의 기여비율(표 4)은 입체성이 83.6%, 정전기장이 16.4%로 입체성이 정전기장보다 1:5비율로 가장 크게 기여하였다. 또한, CoMSIA장의 조합에 따라 유도된 CoMSIA 모델들의 통계값을 표 3에 정리하였다. RBC에 대한 모델(R6~R10)의 경우, 예측성은 $r^2_{cv.}$ (q^2)=0.375~0.654이고

상관성은 $r^2_{ncv}=0.765\sim 0.880$ 을 나타내어 CoMFA보다 다소 낮은 통계값 ($RBC=CoMFA>CoMSIA$)을 나타내었다. CoMSIA 분석에서 가장 좋은 R9 모델은 grid 1.5 Å에서 입체장, 정전기장과 수소결합 주계장이 조합되었을 경우($r^2_{cv}(q^2)=0.600$ 및 $r^2_{ncv}=0.859$)이었으며 표준편차, (SEE_{ncv})=0.110, 최적의 성분수는 3이었다. 이때 기질 분자내 원자들과 probe atom들 사이의 거리에 의존적인 attenuation factor 값은 $\alpha=0.3$ 일 때 가장 높은 예측성, q^2 값을 나타내었다. 살균활성에 대한 CoMSIA장의 기여비율을 표 4에 요약하였다. 이 결과로부터 기여비율은 입체성 35.8%, 정전기장 30.4% 그리고 수소결합 주계장이 33.8%로 3개의 CoMSIA장이 고르게 영향을 미치고 있으며 CoMFA 경우와 마찬가지로 입체성이 비교적 크게 기여하였다. 또한 RBC에 대한 관측값과 두 모델(R3 및 R9)에 의한 예측값과의 비례 관계식으로부터 (CoMFA; $Pred.pl_{50}=0.937Obs.pl_{50}+0.284$, $s=0.065$, $F=196.166$, $r^2=0.938$, $q^2=0.909$ 및 CoMSIA; $Pred.pl_{50}=0.859Obs.pl_{50}+0.632$, $s=0.093$, $F=80.221$, $r^2=0.861$, $q^2=0.832$) CoMFA 모델이 대체로 양호하였다.

SBC에 대한 모델

SBC에 대한 살균활성을 설명하기 위하여 CoMFA장의 조합에 따라 유도된 CoMFA 모델들의 통계값을 표 2에 정리하였다. SBC에 대한 모델들(S1~S5)의 예측성은 $r^2_{cv}(q^2)=0.424\sim 0.620$ 이고 상관성은 $r^2_{ncv}=0.614\sim 0.951$ 이었다. SBC에 대하여 가장 좋은 S4 모델은 $r^2_{cv}(q^2)=0.620$ 및 $r^2_{ncv}=0.951$ 이었으며 표준편차 (SEE_{ncv})= 0.060, 최적의 성분수는 3을 나타내었다. CoMFA장의 기여비율(표 4)은 입체성 68.3%, 정전기

Table 4. Contributions and their ratio (%) of the optimized 3D-QSAR models

Contribution	RBC	SBC
Steric ^{a)}	R3 83.6	S4 68.3
Electrostatic ^{a)}	R3 16.4	S4 31.7
Steric ^{b)}	R9 35.8	-
Electrostatic ^{b)}	R9 30.4	-
H-bond donor ^{b)}	R9 33.8	S10 50.8
Hydrophobic ^{b)}	-	S10 31.0
H-bond acceptor ^{b)}	-	S10 18.2

^{a)}CoMFA, ^{b)}CoMSIA.

성 31.7%로 입체성이 정전기성에 비하여 2:1의 비율로 크게 영향을 미치는 경향이였다. 또한, CoMSIA장의 조합에 따라 유도된 CoMSIA 모델들의 통계값을 표 3에 정리하였다. CoMSIA 모델들(S6~S10)의 예측성은 $r^2_{cv}(q^2)= -0.271\sim 0.785$ 이고 상관성은 $r^2_{ncv}=0.058\sim 0.972$ 으로 RBC와 마찬가지로 CoMFA보다 낮은 통계값을 나타내었다. CoMSIA 분석에서 가장 좋은 S10 모델은 $r^2_{cv}(q^2)=0.785$ 및 $r^2_{ncv}=0.900$ 이었으며 표준편차 (SEE_{ncv})= 0.082 그리고 최적의 성분수는 4이었다. attenuation factor (α)값(그림 4)은 0.4일때 가장 높은 q^2 값을 보였다. 이때 CoMSIA장의 기여비율(표 4)은 수소성장 31.0%, 수소결합 받게장과 주계장이 각각 18.2%와50.8%로 CoMSIA 분석에서는 수소결합 주계장이 살균활성에 가장 크게 기여함을 알 수 있었다. 2D-QSAR 모델로부터 SBC에 대한 살균활성은 소수성이 작아야함을 시사한 바 있다(Sung 등, 1999). 그리고 한 예로, SBC의 살균활성에 대한 관측값 ($obs.pl_{50}$)과 CoMFA 모델(S4)들에 의한 예측값

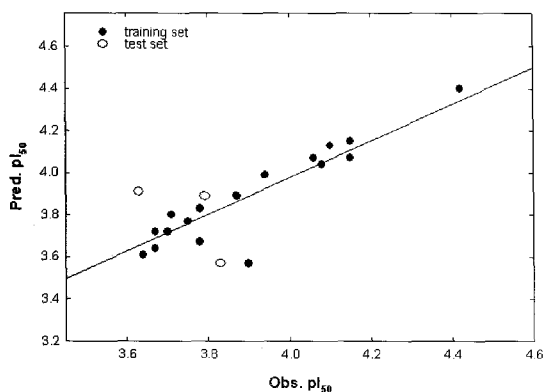


Fig. 3. Relationships between observed values ($Obs.pl_{50}$) and predicted values ($Pred.pl_{50}$) by the optimized CoMFA model, (S-IV) against SBC. (For SBC training set; $Pred.pl_{50}=0.948Obs.pl_{50}+0.184$, $n=17$, $s=0.097$, $F=75.896$, $r^2=0.835$ & $q^2=0.780$).

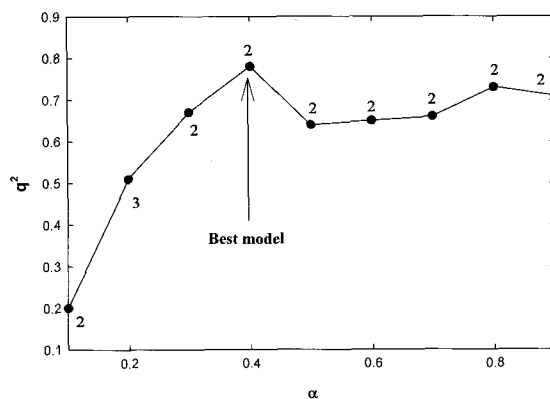


Fig. 4. Variation of q^2 upon changing the attenuation factor (α) used in the distance dependence between the probe atom and the atoms of the molecules in CoMSIA against SBC. The number on the points indicates the optimum number of components.

(*pred.pI₅₀*) 사이의 비례관계를 그림 3에 나타내었다.

그래프의 1차식 관계로부터(CoMFA: $Pred.pI_{50} = 0.948Obs.pI_{50} + 0.184$, $s = 0.097$, $F = 75.896$, $r^2 = 0.835$, $q^2 = 0.780$ 및 CoMSIA; $Pred.pI_{50} = 0.905Obs.pI_{50} + 0.353$, $s = 0.091$, $F = 78.484$, $r^2 = 0.840$, $q^2 = 0.809$) 예측성이 대체로 양호하였다. 한편, CoMFA 및 CoMSIA 두 모델의 training set에 대한 평균 오차를 비교한 결과(표 1), SBC에 대한 모델이 RBC에 대한 것보다 양호한 ($Ave.(PRESS) = SBC < RBC$) 모델임을 잘 설명하고 있다. 또한, 모델의 예측성을 판단하기 위하여 test set에 대한 관측값과 예측값의 편차(표 5)도 training set에 대한 결과와 유사하였다.

Table 5. Observed fungicidal activity (*Obs.pI₅₀*) against RBC and SBC and predicted fungicidal activity (*Pred.pI₅₀*) for the test set compounds

Fungi	No.	CoMFA		CoMSIA	
		Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
RBC	1	4.16	0.64	4.16	0.64
	6	4.49	-0.40	4.36	-0.27
	12	4.74	-0.53	4.80	-0.59
	15	4.73	-0.41	4.75	-0.43
	30	4.90	-0.81	4.54	-0.45
	Ave.		0.56	0.48	
SBC	2	3.57	0.26	3.72	0.11
	5	3.91	-0.28	3.70	-0.07
	10	3.89	-0.10	3.71	0.08
	Ave.		0.21	0.09	

^{a)}Pred. values were calculated according to the optimized models in Table 2 and 3., ^{b)}difference between observed (*Obs.*) values and predicted (*Pred.*) values.

두 균주에 대한 등고도

RBC에 대한 CoMFA 모델(R3)과 CoMSIA 모델(R9)이 가지는 특성 장들에 의한 기여도를 분석하기 위하여 RBC 및 SBC 각각에 대하여 가장 큰 살균활성을 보인 3-methyl 치환체(1)와 3-hydroxy 치환체(4)에 대한 등고도를 그림 5와 6에 각각 나타내었다. 먼저, RBC에 대한 CoMFA 모델(R3)의 등고도(그림 5)에서는 *N*-phenyl 고리상 meta 및 para-치환기의 입체장(green)과 넓은 범위에서 양하전(blue)이 클수록 살균활성이 증가하는 것으로 나타났다. CoMSIA 모델(R9)의 등고도(그림 6)에서는 *N*-phenyl 고리상 meta-치환기가 양하전이 클수록, para-치환기는 입체장이 클수록 살균활성이 증가할 것으로 나타났다. 그러므로 RBC에 대한

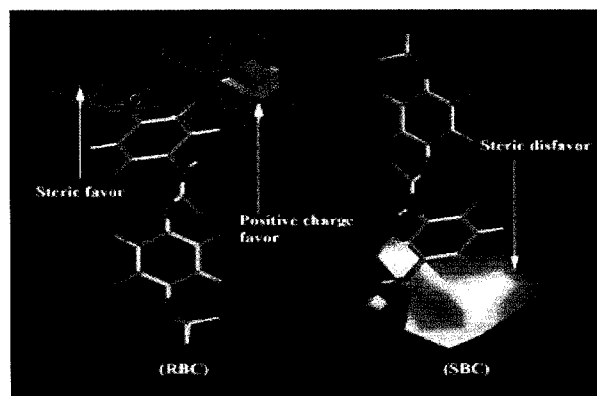


Fig. 5. CoMFA contour maps for steric and electrostatic field ($stdev \cdot coeff$) on the fungicidal activity against RBC. The highest active compounds [RBC: 1 & SBC: 4] are shown in capped sticks.

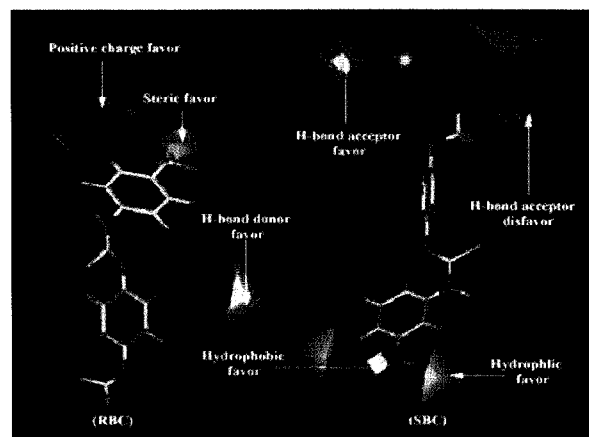


Fig. 6. CoMSIA contour maps for steric and electrostatic field (left) and hydrophobic, H-bond acceptor & donor field (right) ($stdev \cdot coeff$) on the fungicidal activity against RBC (left) and SBC (right). The highest active compounds (RBC: 1 & SBC: 4) are shown in capped sticks.

살균활성은 *N*-phenyl 고리상 meta-치환기가 양하전 그리고 para-치환기는 입체적으로 클수록 살균활성이 증가할 것으로 예측되었다. 한편, SBC에 대한 CoMFA 모델(S4)의 등고도(그림 5)에서는 meta- 및 para-치환기 주위의 넓은 범위에는 입체장이 작은 치환기가 올수록(yellow) 살균활성이 증가하는 것으로 나타났다. 또한, CoMSIA 모델(S10)에 대한 등고도(그림 6)에서는 *O*-phenyl 고리상 meta-치환기는 수소결합 받개(cyan)가 살균활성을 증가시키는 요소로 작용할 것으로 판단된다. *S*-phenyl 고리상 4-methoxy 치환기가 존재하는 분산된 위치에 음하전(red)이 클수록, *N*-phenyl 고리상 meta- 및 para-치환기 위치에 소수성(yellow)과

친수성(white) 그리고 수소결합 받개(cyan)가 큰 치환기가 존재할 경우에 살균활성이 증가할 것으로 해석되었다.

두 균주 간 선택성

균주별 최적의 모델에 의한 CoMFA 및 CoMSIA의 기여비율(%)에 근거하여(표 4) RBC에 대한 CoMFA장의 기여도는 입체장이 정전기장보다 5:1의 비율로 그리고 SBC의 경우에는 2:1의 비율로 공통적으로 입체장이 정전기장에 비하여 큰 영향을 미치는 경향이었으며 정전기장의 기여비율이 공통적으로 큰 경향이였다. 한편, 두 균주에 대한 살균활성에 미치는 CoMSIA장의 기여도는 CoMFA와 달랐다. CoMFA의 입체장은 CoMSIA에서 입체장과 소수성장으로 그리고 CoMFA의 정전기장은 CoMSIA에서 정전기장, 수소결합 주계장 및 수소결합 받개장 등, 5가지 요소로 각각 표현된다(Cramer 등, 1988). 따라서 RBC에서는 CoMFA의 정전기장이 CoMSIA에서 정전기장과 수소결합 받개장 그리고 SBC의 경우에는 CoMFA의 입체장이 CoMSIA에서 소수성장 CoMFA의 정전기장이 CoMSIA에서 수소결합 받개장과 수소결합 주계장으로 각각 나타났다. SBC에서는 입체장과 정전기장이 나타나지 않은 반면에 SBC에서는 소수성과 수소결합 받개장이 2:1 비율로 소수성이 큰 영향을 미치고 있다. 특히, 수소결합 주계장이 두 균주에 대하여 공통적으로 존재하며 SBC에서는 수소결합 주계장이 가장 크게 기여하였다. 그러나 CoMFA 모델이 CoMSIA 모델보다 통계값이 월등하게 양호($r^2 = \text{CoMFA} \gg \text{CoMSIA}$)하므로 CoMFA장에 따른 의존성이 크다. 따라서 두 균주 사이 살균활성의 선택성은 입체장의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 그러므로 *N*-phenyl 고리상 meta 및 para 위치에는 입체적으로 큰 치환체가 RBC 보다는 SBC에 대하여 선택적으로 살균활성을 증가시킬 것으로 예측되었다. 그러나 이들 화합물에 의한 벼잎집무늬마름병균(*Rhizoctonia solani*)과 고추역병균(*Phytophthora capsici*) 사이의 선택적인 살균활성은 정전기장에 의존적이었으며 치환기(X)의 변화를 통하여 개선될 수 있을 것임을 시사한 바 (Sung 등, 2006) 있었다.

이루어 진 것입니다.

인용문헌

- Akagi, T., S. Mitani, K. Ito, I. Shigehara, T. Komyoji, N. Matsuo (1995) Structure-activity relationships of pyridylcarbamates active against both benzimidazole-sensitive and -resistant isolates of *Botrytis cinerea*, Pestic. Sci. 44:39~48.
- Albores-Velasco, M., J. John and R. L. Wain (1995) Fungicidal activity of phenyl-N(4-substituted phenyl)thionocarbamates. J. Agric. Food Chem. 43:2260~2261.
- Cramer, R. III., D. E. Patterson and J. D. Bunce (1988a) Comparative molecular field analysis (CoMFA), 1. Effect of shape on the binding of steroids to carrier proteins, J. Am. Chem. Soc. 110: 5959~5967.
- Cramer, R. D., J. D. Bunce and D. E. Patterson (1988b) Cross-validation, Bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. Quant. Struct. Act. Relat. 7:18~25.
- Eya, B. K. and T. R. Fukuto (1986) Formamidine-S-carbamates: A new procarbamate analogue with improved ovicidal and acaricidal activities. J. Agric. Food Chem. 34:947~952.
- Fahmy, M. A. H., N. M. Mallipudi and T. R. Fukuto (1978) Selective toxicity of N, N'-thiodicarbamates. J. Agric. Food Chem. 26:50~557.
- Humeres, E., G. A. Cantos, N. A. Debacher, R. J. Nunes, (1997) Hydrophobicity constant of the dithiocarbamamic fragment and QSAR of dithiocarbamate fungicides, Org. React. 31:45~49.
- Kim, J. H., H. J. Park and B. Y. Park (2002) Inhibition of Cholinesterase Activity by carbamate insecticides. J. Environ. Sci. Health, 11(4):391~397.
- 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) 3D QSAR in Drug Design; Theory, Methods and Applications, ESCOM: Leiden.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 지원 연구비(No. R11-2005-100-03005)에 의하여

- Li, C., H. Zhiqiang, Q. Wang, J. Shang, R. Huang and F. Bi (2007) Insecticidal Benzoylphenylurea-S-Carbamate: A new propesticide with two effects of both benzoylphenylureas and carbamates. *J. Agric. Food Chem.* 55:2659~2663.
- Rosslbroich, H. J. and D. Stuebler (2000) *Botrytis cinerea*-history of chemical control and novel fungicides for its management, *Crop Prot.* 19:557~561.
- Sung, N. D. and M. K. Soung (1999) Phenyl substituent effect on the fungicidal activity of N-phenylthionocarbamate derivatives, *Korean J. Pesticide Sci.* 3:29~36.
- Sung, N. D., M. K. Soung, J. W. You and S. C. Jang (2006) Comparative molecular field analysis on the fungicidal activity of N-phenylthionocarbamate derivatives based on different approaches, *Korean J. Pesticide Sci.* 10:157~164.
- Tripos, Sybyl (2007) Molecular Modeling and QSAR Software on CD-ROM (Ver. 7.3), Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO. 63144-2913, U.S.A., <http://www.tripos.com/bookshelf/qsar/>.

잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 대한 N-Phenyl-O-phenylthionocarbamate 유도체들의 살균활성에 관한 3D-QSAR 분석

성낙도* · 박기한¹ · 장석찬 · 성민규²

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, ¹바이엘크롭사이언스(주) 인사지원팀, ²펩트론(주) 중앙연구소

요약 : 감수성(SBC) 및 저항성(RBC) 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)에 대한 N-phenyl-O-phenylthionocarbamate 유도체들의 살균활성에 대한 3차원적인 구조와 활성과의 관계(3D-QSAR)를 CoMFA와 CoMSIA 방법으로 검토하였다. 최적화 된 CoMFA 모델의 예측성과 상관성이 CoMSIA 모델보다 양호하였으며 (r^2 및 q^2 =CoMFA \gg CoMSIA) SBC 균주에 대한 살균활성 모델이 RBC에 대한 모델보다 양호한 통계값 (r^2 =SBC \gg RBC)을 나타내었다. 또한, CoMFA 모델에서는 정전기장보다 입체장이 큰 영향을 미쳤다. CoMSIA 모델에서는 RBC 및 SBC에 대한 살균활성에 관한 CoMSIA 장의 영향은 서로 상이하였으나 수소결합 주계장의 영향은 같았다. 통계적으로 양호한 CoMFA 모델에 의하여 두 균주사이 살균활성에 관한 선택성 요소는 입체장의 차이에 기인하는 것으로 판단된다. 그러므로 N-phenyl 고리상 meta 및 para-치환체의 큰 입체장은 SBC에 대한 살균활성을 향상시킬 것으로 예측되었다.

색인어 : N-phenyl-O-phenylthionocarbamates, 저항성 및 감수성 잣빛곰팡이균 (*Botrytis cinerea*), 항균활성, CoMFA 및 CoMSIA 분석