

## N-phenylbenzenesulfonamide 유도체들에 의한 모잘록병균 (*Pythium ultimum*)의 살균활성에 관한 CoMFA 및 CoMSIA 분석

장석찬 · 강규영<sup>1</sup> · 성낙도\*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부, <sup>1</sup>경상대학교 농업생명과학대학 환경생명화학전공

**요약** : N-phenylbenzenesulfonamide 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide 유도체(1-34)들의 phenyl 및 thienyl 고리상 치환기(R1-R5) 변화에 따른 모잘록병균(*Pythium ultimum*)의 살균활성에 관한 3차원적인 정량적 구조와 활성과의 관계(3D-QSARs)들을 비교 분자장 분석(CoMFA)과 비교분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 방법으로 각각 검토하였다. 전반적으로 CoMSIA 모델들의 통계값은 atom based fit 정렬보다는 field fit 정렬시에 높은 값을 나타내었으나 CoMFA모델의 경우에는 차이가 없었다. 그리고 CoMSIA (FF1) 모델( $r_{cv}^2$  ( $q^2$ )=0.674 및  $r_{ncv}^2$  = 0.964)이 CoMFA (AF5) 모델( $r_{cv}^2$  ( $q^2$ )=0.616 및  $r_{ncv}^2$  = 0.930)보다 상관성과 예측성이 양호하였다. CoMSIA (FF1) 모델의 정보에 따라 살균활성은 분자의 정전기장과 소수성장에 의존적이었다. 또한, CoMSIA (FF3) 모델의 등고도 분석 결과로부터 N-phenyl 고리상 R4-치환기의 친수성과 수소결합 받게로서의 성질이 모잘록병균의 살균활성에 기여할 것으로 예상되었다. (2007년 1월 17일 접수, 2007년 3월 14일 수리)

**색인어** : 비교 분자장 분석(CoMFA), 비교분자 유사성지수 분석(CoMSIA), N-phenylbenzenesulfonamide 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide 유도체, 살균활성, 모잘록병균(*Pythium ultimum*).

### 서 론

2003년을 기준으로 상용화된 858종의 합성 농약중에서 sulfonamide계 화합물은 48종이며 이중에서 제초제가 43종이고 살충제 1종 및 살균제가 4종이다. 살균제 중, cyazofanamide, dichlofluanid 및 tolylfluanid가 식물병원성 곰팡이 방제 약제이고 sulfaquinoxaline은 세균방제제(bactericide)나 살서제(rodenticide) 용도로 사용하는 약제이다(Tomlin, 2003). 이같이 지난 수 년간 sulfonamide계 화합물들은 살균제로서 뿐만 아니라, 항말라리아 및 나병에 대한 화학요법에 의한 치료제로서 널리 연구되어 왔으며(Benedetti 등, 1987; Zani 등, 1998) 근래에는 sulfonamide계 화합물들이 endothelin, 5-HT<sub>6</sub>,  $\beta$ 3-adrenergic 수용체 및 thrombin 저해제(Bouissane 등, 2006) 등으로도 작용한다고 보고하고 있다.

Sulfonamide계 화합물들은 dihydropteroate 생합성에 의하여 p-aminobenzoic acid, pteridien과 glutamic acid로부터 dihydrofolic acid를 생합성하는 과정에서 p-aminobenzoic acid에 대한 경쟁적 길항작용에 의해서 dihydrofolic acid의 생성저해를 발현함으로써 몇 가지

세균들에 대하여 살균활성(Benedetti 등, 1991; Zani 등, 1998; Mandell 등, 1995)을 나타낸다고 보고되고 있다(Elipoulos 등, 1991). 최근, 저자(Sung 등, 2005)는 benzenesulfonamide 유도체에 의한 NFAT(calcineurin-nuclear factor of activated T cells) 신호의 저해에 관련된 면역학 분야의 3D-QSAR 분석 결과를 보고한 바 있다.

본 연구에서는 N-phenylbenzenesulfonamide 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide 유도체들의 구조변화에 따른 작물의 모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대한 살균활성 관계(QSAR) (Akamatsu, 2002)를 비교 분자장 분석(CoMFA)(Cramer 등, 1998)과 비교분자 유사성 지수분석(CoMSIA)(Klebe 등, 1994) 방법으로 검토하고 살균활성을 개선할 수 있는 구조적 특징에 관하여 논의하였다.

### 재료 및 방법

#### 살균활성 및 분자 모델링

기질 분자로서 N-phenylbenzenesulfonamide (1-28) 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide (29-34) 유도체 (Fig. 1)들의 S-phenyl 또는 S-thienyl 고리상 R1-치환기와 N-phenyl 고리상 R2-R5 치환기 변화에 따른 작물의

\* 연락처



Fig. 1. General structures of N-phenylbenzenesulfonamide and N-phenyl-2-thienylsulfonamide analogues.

모잘록병균(*Pythium ultimum*)(Tozo 등, 1998)에 대한 살균활성(*obs.pl<sub>50</sub>*)은 문헌값(Kim 등, 2000; Kang 등, 2002)을 활용하였다. 한편, CoMFA 및 CoMSIA 분석은 Sybyl 분자 모델링(Tripos, 2001) 소프트웨어(Ver. 7.2)를 사용하였다. 그리고 가장 안정한 형태는 simulated annealing 방법(Kerr 등, 1994)으로 탐색하였으며 특정 원자의 부분적인 전하는 Gästeiger-Hückel 전하(Purcell, 1967)를 적용하였다. CoMFA 및 CoMSIA 장을 구하기 위하여 N-phenylbenzenesulfonamide 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide 유도체들의 최적화된 형태들을 18×20×22Å 규격의 3차원 입방격자 공간상에 정렬하였다(Klebe, 1993). 분자의 정렬은 atom based fit (AF) (Marshall 등, 1979)과 field fit (FF) (Clark 등, 1990) 등, 2가지 정렬 방법들을 사용하였다. 한 예로, Fig. 2는 3차원 공간상에 최적화된 분자들의 AF 정렬상태를 보여주고 있다.

### 3D-QSAR 설명인자의 계산

3차원 공간상에 정렬된 각 분자들을 grid=1.0~3.0Å 간격으로 탄소 원자(sp<sup>3</sup> 혼성 +1전하)를 probe atom으로 사용하여 규칙적으로 배열한 다음에 probe atom과 분자의 나머지 부분 사이의 Coulombic potential에 의한 정전기장과 분자간 분산력(dispersion)을 설명하기 위하여 Lennard-Jones potential에 의한 입체장(Van der Waals potential) 에너지를 계산하였다. 소수성장(H)에 따른 영향을 검토하기 위하여 추가적인 설명인자로서 ClogP 값을 포함시켜 분석하였다. 모델의 상관성을 높이기 위하여 입체장(S)과 정전기장(E)을 위시하여 소수성(ClogP)적 상호작용으로 조합된(Kellogg 등, 1991) CoMFA 장을 사용하였다. CoMSIA 분석에서도 CoMFA에서와 같은 정렬조건에서 기질분자 주변 grids의 확장을 일정한 크기(Å)로 고정하였다. 그리고 1Å 반경의 소수성 +1, 수소결합 주개 +1 및 수소결합 받게 +1의 probe atom과 기질분자 사이의 격자 교차9점에서 유사성 지수들을 각각 계산하였다(Klebe 등, 1999). 입체장(S), 정전기장(E), 소수성장(H), 수소결합 받게장(HA) 및

수소결합 주개장(D) 등, 5개의 CoMSIA field 뿐만 아니라, attenuation factor(α)를 0.1~0.9까지 변화시키면서 그에 따른 가장 양호한 통계값(q<sup>2</sup>값 및 r<sup>2</sup><sub>ncv</sub>값)을 가지는 모델을 탐색하여 유도하였다.

### 부분 최소자승 분석

3차원 공간상에 정렬된 화합물들의 3D 구조적 특징에 관한 설명인자와 생물 활성간의 상관관계를 부분최소자승(PLS)법 (Cramer 등, 1988)으로 계산하였다. 다중회귀식에서 변수에 해당하는 최적의 주성분 수를 결정하기 위하여 LOO (leave-one-out) cross-validated (cv.) 과정을 실행하여 예측성, q<sup>2</sup>값 (또는 r<sup>2</sup><sub>cv</sub>)과 최적의 성분수를 탐색하였다. 이를 근거로 none cross-validation (ncv)과정으로 상관성(r<sup>2</sup><sub>ncv</sub>)은 다음 조건으로(Scaling: CoMFA standard, column filtering: 2.0 kcal/mol) 계산하였다. 모델의 적정성은 상관성(r<sup>2</sup><sub>ncv</sub>)이 0.90이상, 그리고 예측성(q<sup>2</sup>)이 0.50 이상일 경우에 안정성과 합리적인 예측성을 갖는 모델로 판단한다. 이때 성분수가 증가하게 되면 q<sup>2</sup>값이 커지므로 data point의 over fitting을 피하기 위하여 가능한 적은 성분수(3~5)가 되도록 계산하였다. 또한, training set의 관측값(*obs.pl<sub>50</sub>*)과 모델에 의한 예측값(*pred.pl<sub>50</sub>*) 사이 제곱편차의 합인 PRESS (predictive residual sum of squares) 값을 계산하였다.

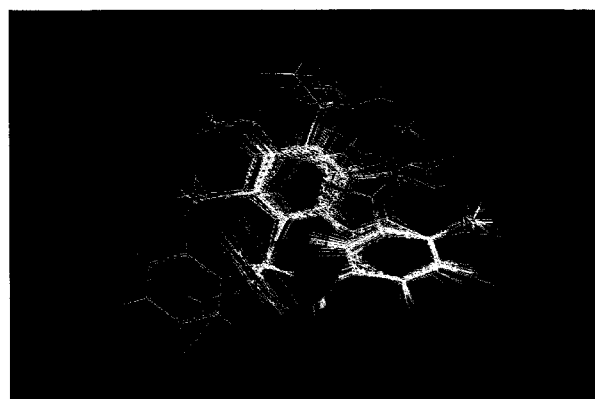


Fig. 2. Alignment of the potential energy minimized substrate structures according to a least-squares atom based fit.

Table 1. Observed fungicidal activities ( $pI_{50}$ ) against damping-off (*Pythium ultimum*) with N-phenylbenzenesulfonamide and N-phenyl-2-thienylsulfonamide analogues, and predicted inhibition activity (pred.) by optimized CoMFA & CoMSIA models

No.	Substituents (R)					$pI_{50}^a)$	CoMFA		CoMSIA	
	1	2	3	4	5		Pred. <sup>b)</sup>	Dev. <sup>c)</sup>	Pred. <sup>b)</sup>	Dev. <sup>c)</sup>
2	4-OCH <sub>3</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.72	4.78	-0.06	4.74	-0.02
3	3-OCH <sub>3</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.57	4.60	-0.03	4.60	-0.03
4	2-F, 4-Cl	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	5.14	4.75	0.39	5.01	0.13
5	3,4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.00	4.12	-0.12	3.98	0.02
6	2-CH <sub>3</sub> , 4-F	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.58	4.67	-0.09	4.69	-0.11
7	3-CF <sub>3</sub> , 4-Br	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.44	4.29	0.15	4.46	-0.02
8	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.82	4.62	0.20	4.73	0.09
9	3-CH <sub>3</sub> , 4-Br	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.76	4.54	0.22	4.81	-0.05
10	4-COCH <sub>3</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.21	4.12	0.09	4.22	-0.01
12	2-NO <sub>2</sub> , 2-CF <sub>3</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.23	4.17	0.06	4.25	-0.02
13	3-Br, 2-CF <sub>3</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.43	4.39	0.04	4.43	0.00
14	2,5-(CF <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	3.99	3.96	0.03	3.97	0.02
15	4-Br	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.64	4.56	0.08	4.48	0.16
16	3-OCH <sub>3</sub>	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.01	4.08	-0.07	3.97	0.04
18	2-CH <sub>3</sub> , 4-F	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.20	4.18	0.02	4.16	0.04
19	3-CH <sub>3</sub> , 4-Br	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.15	4.33	-0.18	4.25	-0.10
20	2-F, 4-Cl	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.51	4.60	-0.09	4.65	-0.14
22	4-COCH <sub>3</sub>	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.22	4.21	0.01	4.16	0.06
23	2,5-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.08	4.19	-0.11	4.01	0.07
24	4-OCH <sub>3</sub>	Cl	H	CF <sub>3</sub>	Cl	3.38	3.64	-0.26	3.46	-0.08
25	3,4-(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cl	H	CF <sub>3</sub>	Cl	3.75	3.68	0.07	3.74	0.01
26	4-COCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl	H	4.26	4.30	-0.04	4.26	0.00
28	4-OCH <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	F	H	4.42	4.34	0.08	4.43	-0.01
29 <sup>d)</sup>	2-thienyl	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.57	4.57	0.00	4.63	-0.06
30 <sup>d)</sup>	2,5-(Cl) <sub>2</sub> thien-3-yl	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.70	4.67	0.03	4.68	0.02
31 <sup>d)</sup>	2,5-(Cl) <sub>2</sub> thien-3-yl	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.45	4.58	-0.13	4.53	-0.08
32 <sup>d)</sup>	2,5-(Cl) <sub>2</sub> thien-3-yl	Cl	H	CF <sub>3</sub>	Cl	4.17	4.19	-0.02	4.14	0.03
33 <sup>d)</sup>	2-thienyl	H	Cl	Cl	H	4.54	4.71	-0.17	4.54	0.00
34 <sup>d)</sup>	2-thienyl	H	CF <sub>3</sub>	F	H	4.44	4.47	-0.03	4.43	0.01
AVE. <sup>e)</sup> (PRESS <sup>f)</sup> )								0.10 (0.49)	0.05 (0.13)	

<sup>a)</sup>observed value, <sup>b)</sup>predicted values by the optimized models; CoMFA (AF5) and CoMSIA (FF1), <sup>c)</sup>difference between observed and predicted value, <sup>d)</sup>thienyl substituent, <sup>e)</sup>average residual of training set, <sup>f)</sup>predictive residual sum of squares of the training set.

### CoMFA와 CoMSIA 등고도

선정된 모델의 CoMFA와 CoMSIA 장에 관한 정보를 시각적으로 분석하기 위하여 살균활성 변화에 관한 CoMFA 및 CoMSIA coefficient들에 대하여 field type (stdev\*coeff)을 사용하여 N-phenylbenzenesulfonamide 유도체들의 분자내 살균활성 발현 부위에 대한 구조적인 특징들을 등고도로 나타내었다. 가장 높은 살균활성(obs. $pI_{50}$ =514)을 나타낸 화합물(4)에 대하여 CoMFA와 CoSIA 등고도를 각각 나타내었다. 등고도 상 CoMFA 및 CoMSIA field의 favor 및

disfavor의 비율은 favor: 80% 및 disfavor: 20%로 각각 나타내었다. 그러나 소수성과 친수성의 비율은 hydrophobic favor: 80% 및 hydrophilic favor: 20%로 각각 나타내었다.

### 결과 및 고찰

#### CoMFA 모델

N-phenylbenzenesulfonamide (1-28) 및 N-phenyl-2-thienyl sulfonamide (29-34) 유도체들의 S-phenyl 또는

Table 2. Summary of the statistical results for CoMFA models in several different field combinations with atom based fit (AF) and field fit (FF) alignment

Model	CoMFA Fields			PLS analyses					
	S	I	HB	Grid(Å)	NC <sup>(b)</sup>	$r^2_{cv.}$ <sup>(c)</sup>	$r^2_{ncv.}$ <sup>(d)</sup>	$SEE_{ncv.}$ <sup>(e)</sup>	F <sup>(f)</sup>
AF1	✓			2.0	4	0.518	0.906	0.117	57.759
AF2	✓	✓		2.0	4	0.577	0.926	0.104	74.912
AF3	✓		✓	1.5	4	0.600	0.918	0.109	67.454
AF4		✓	✓	1.5	5	0.572	0.930	0.103	60.790
AF5 <sup>(a)</sup>	✓	✓	✓	1.5	4	0.616	0.930	0.101	79.833
FF1	✓			1.5	4	0.552	0.900	0.120	54.268
FF2	✓	✓		1.5	4	0.589	0.928	0.103	76.889
FF3	✓		✓	1.5	4	0.560	0.920	0.108	69.310
FF4		✓	✓	2.5	5	0.502	0.919	0.111	51.927
FF5	✓	✓	✓	1.5	4	0.583	0.924	0.105	73.450

Abbreviation: S=standard, I=indicator HB=H-bond field, <sup>(a)</sup>the optimized CoMFA model, <sup>(b)</sup>number of component, <sup>(c)</sup>cross-validated  $q^2$ , <sup>(d)</sup>non-cross-validated  $r^2$ , <sup>(e)</sup>standard error estimate, <sup>(f)</sup>fraction of explained versus unexplained variance.

S-thienyl 고리상 치환기(R1)와 N-phenyl 고리상 치환기(R2-R5) 변화(Fig. 1)에 따른 작물의 모잘록병균(*Pythium ultimum*)에 대하여 관측된 살균활성( $obs.pI_{50}$ )과 CoMFA (AF5) 및 CoMSIA (FF1)모델로 예측된 활성값( $pred.pI_{50}$ ) 그리고 이들 두값의 오차(Dev.) 및 통계적 수치(Ave. 및 PRESS)를 Table 1에 정리하였다. 관측값을 기준으로 화합물 4가 제일 큰 살균활성( $pI_{50}=5.14$ )을 그리고 화합물 24가 제일 작은 살균활성( $pI_{50}=3.38$ )을 나타내었다.

또한, thienyl-치환체(29-34)들은  $pI_{50}=4.17-4.70$  범위의 살균활성을 나타내었다. 정렬방법(AF 및 FF)을 달리 한 grid의 범위(1.0~3.0Å)와 CoMFA field의 조합에 따라 유도된 CoMFA 모델(AF1-AF5 및 FF1-FF5)들의 통계값을 Table 2에 정리하였다. 이들 모델들의 예측성 척도인 cross-validated value는  $r^2_{cv.}$  ( $q^2$ )=0.502~0.616 이고 상관성은  $r^2_{ncv.}$ =0.900~0.930이었다. 정렬방법에 따른 모델들의 통계값은 비슷하였으나 제일 좋은 CoMFA 모델(AF5)은 grid 1.5Å에서 standard. indicator 및 hydrogen bond field가 조합되었을 경우에 가장 양호한 예측성과 상관성( $r^2_{cv.}$  ( $q^2$ )=0.616 및  $r^2_{ncv.}$ =0.930)을 나타내었다. 그리고 표준편차( $SEE_{ncv.}$ )=0.101, F=79.833, 최적의 성분수는 4이었고 기여도는 입체장 59.4%, 정전기장 35.2% 및 소수성장이 5.5%로 입체장이 가장 크게 기여하였다. 또한, 관측값( $obs.pI_{50}$ )과 CoMFA 모델(AF5)에 의한 예측값( $pred.pI_{50}$ ) 사이의 관계(Fig.3) 식( $Pred.pI_{50}=0.784Obs.pI_{50}+0.939$ , n=29, s=0.110, F=176.575,  $r^2=0.930$  및  $q^2=0.822$ )으로부터 모델의 예측성은 매우 양호하다고 판단되었다.

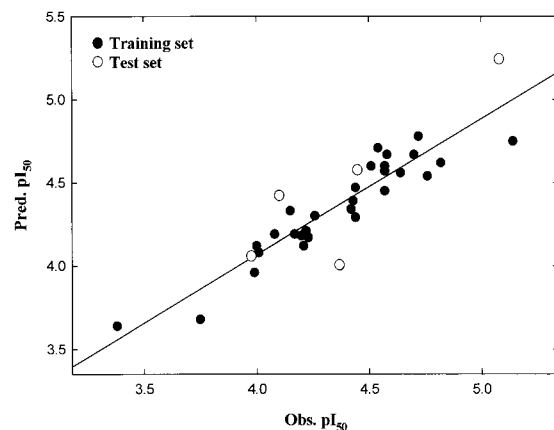


Fig. 3. Relationships between observed fungicidal activities ( $obs.pI_{50}$ ) against *Pythium ultimum* and predicted activities ( $pred.pI_{50}$ ) by CoMFA model AF5. (For training set;  $Pred.pI_{50}=0.784Obs.pI_{50}+0.939$ , n=29, s=0.110, F=176.575,  $r^2=0.930$  &  $q^2=0.822$ ).

#### CoMSIA 모델

정렬방법(AF 및 FF)에 따른 grid의 범위(1.0~3.0Å)와 CoMSIA field의 조합에 따라 유도된 CoMSIA 모델(AF1-AF5 및 FF1-FF5)들의 통계값을 Table 3에 정리하였다. CoMSIA 모델들의 예측성은  $r^2_{cv.}$  ( $q^2$ )=0.555~0.679이고 상관성은  $r^2_{ncv.}$ =0.912~0.961로 AF 정렬보다는 FF 정렬시에 양호한 통계값을 나타내었다. 통계적으로 양호한 CoMSIA 모델은 FF1-FF3 등, 3개의 모델이었으나 상관성( $r^2_{cv.}$ )이 높은 CoMSIA 모델(FF1)을 가장 적합한 모델로 선정하였다. CoMSIA 모델(FF1)은 attenuation factor( $\alpha$ )=0.9일 경우에 grid 2.0Å에서 정전

기장(E) 및 소수성장(H)이 조합된 조건에서  $r_{cv}^2(q^2)=0.674$  및  $r_{ncv}^2=0.964$ 이었으며 표준편차( $SEE_{ncv}$ )=0.074, 최적의 성분수는 5이었다. 그리고 CoMSIA 모델(FF1)이 나타내는 기여도는 정전기장 62%, 소수성장이 38%로 정전기장이 가장 크게 기여하였다. 또한, 관측값( $obs.pI_{50}$ )과 CoMSIA 모델(FF1)에 의한 예측값( $pred.pI_{50}$ ) 사이의 관계를 Fig. 4에 나타내었다.

CoMSIA 모델(FF1)에 의한 관계식( $pred.pI_{50}=0.962 Obs.pI_{50}+0.168$ ,  $n=29$ ,  $s=0.069$ ,  $F=672.747$ ,  $r^2=0.961$  및  $q^2=0.956$ )으로부터 예측성이 양호하였다. 또한 Fig. 5는 CoMSIA에서 probe atom과 분자들의 원자와의 관계를 나타낸 attenuation factor ( $\alpha$ )의 변화에 따른 예측성을 나타내는  $q^2$ 와의 관계를 나타내었다. 이로부터  $\alpha=0.1\sim 0.9$ 까지 다양하게 변화시킨 결과,  $\alpha=0.9$ 이고 주성분의 수가 5일 경우에 가장 높은 예측성을 보였다. 이와같이 CoMFA 모델(AF5)보다 CoMSIA 모델(FF1)이 통계적으로 양호하기 때문에 살균활성은 CoMSIA 장(정전기장과 소수성장)에 의존적이라고 판단되었다. 특히, CoMSIA 모델(FF3)은 CoMFA 모델(AF5)에 비하여 통계값이 양호할 뿐만 아니라, CoMSIA 모델(FF1)과 CoMFA 모델(AF5)에 비하여 수소결합(HA)에 대한 정보를 추가로 얻을 수 있다.

이와같이 적정한 CoMSIA 모델이 CoMFA 모델보다 통계적으로 좋은 이유는, 본 연구의 경우에 있어서 training set의 생물활성을 CoMFA장으로 설명하기보다는 세분화 된 CoMSIA장으로 계산되는 것이 합리적이라고 판단되기 때문으로 설명된다. 또한, 동일한 training

set에 대하여 선택된 최적의 모델에서 CoMFA장과 CoMSIA장이 다를수도 있고 유사할 경우도 있다. 왜냐하면, 3D-QSAR에서 CoMFA의 입체장은 CoMSIA에서 입체장과 소수성장으로 그리고 CoMFA의 정전기장은 CoMSIA에서 정전기장, 수소결합 주계장 및 수소결합 받게장 등의 요소로 각각 표현될 (Cramer 등, 1988) 뿐만 아니라, CoMFA 장이나 또는 CoMSIA 장의 조합에 따라서 모델들의 결과가 유사할 경우도 있고 다른 경우도 있기 때문이다.

### CoMFA 등고도

CoMFA 모델(AF5) 및 CoMSIA 모델(FF3)이 가지는 특성장에 의한 기여도를 분석하기 위하여 가장 큰 활성을 보인 4번 화합물에 대한 CoMFA 등고도를 Fig. 6-8에 각각 나타내었다. 먼저, CoMFA 모델(AF5)의 입체장에 관한 등고도를 Fig. 6에 나타내었다. 녹색(green) 부분은 steric bulky한 치환기가 도입될수록 살균활성이 증가함을 의미하는 분자의 성질을 나타내는 반면에 노란색(yellow) 부분은 입체적으로 작은 치환기일수록 살균활성에 기여하는 입체장을 나타내고 있다. 여러 방향으로 회전시켜 확인한 결과, S-phenyl 고리상 C4 및 C5번 탄소원자 상 R1-치환기는 입체적으로 작고, 넓은 범위에 걸쳐서 (C2-C5) R1과 N-phenyl 고리상 R2 및 R3-치환기는 입체성이 큰 치환기일수록 살균활성이 증가할 것으로 예상된다. 또한, CoMFA 모델(AF5)의 정전기장에 관한 등고도를 Fig. 7에 나타내었다. 붉은색(red) 부분은 음하전을 그리고 푸른

Table 3. Summary of the statistical results for CoMSIA models in several different field combinations with atom based fit (AF) and field fit (FF) alignment

Model	CoMSIA Fields					PLS analyses						
	S	E	H	D	HA	Grid(Å)	$\alpha$	NC <sup>a)</sup>	$r_{cv}^2$ <sup>b)</sup>	$r_{ncv}^2$ <sup>c)</sup>	$SEE_{ncv}$ <sup>d)</sup>	F <sup>e)</sup>
AF1	✓	✓	✓			1.0	0.6	5	0.555	0.947	0.090	81.619
AF2		✓	✓	✓		2.0	0.3	5	0.557	0.905	0.120	43.939
AF3	✓	✓	✓	✓		1.5	0.3	5	0.643	0.914	0.115	48.684
AF4	✓	✓	✓		✓	1.5	0.3	4	0.646	0.922	0.109	54.446
AF5	✓	✓	✓	✓	✓	1.5	0.3	5	0.644	0.912	0.116	47.433
FF1 <sup>f)</sup>		✓	✓			2.0	0.9	5	0.674	0.964	0.074	123.743
FF2	✓	✓	✓			2.0	0.9	5	0.669	0.962	0.076	117.377
FF3		✓	✓		✓	2.0	0.9	5	0.679	0.961	0.077	113.563
FF4	✓	✓	✓	✓		2.0	0.3	5	0.575	0.919	0.111	51.880
FF5	✓	✓	✓		✓	2.0	0.3	5	0.564	0.925	0.107	56.749

Abbreviation: S=steric, E=electrostatic, H=hydrophobicity, D=H-bond donor, HA=H-bond acceptor,  $\alpha$ : attenuation factor, <sup>a)</sup>number of component, <sup>b)</sup>cross-validated  $q^2$ , <sup>c)</sup>non-cross-validated  $r^2$ , <sup>d)</sup>standard error estimate, <sup>e)</sup>fraction of explained versus unexplained variance, <sup>f)</sup>the optimized CoMSIA model.

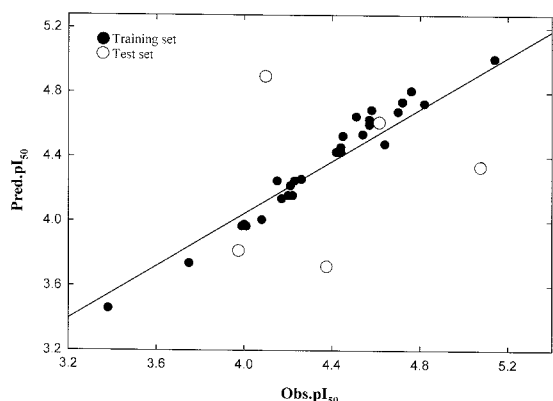


Fig. 4. Relationships between observed activities (*obs. PI<sub>50</sub>*) against *Pythium ultimum* and predicted activities (*pred.PI<sub>50</sub>*) by CoMSIA model FF1. (For training set;  $Pred.PI_{50}=0.965Obs.PI_{50}+0.154$ ,  $n=29$ ,  $s=0.068$ ,  $F=714.194$ ,  $r^2=0.964$  &  $q^2=0.957$ ).

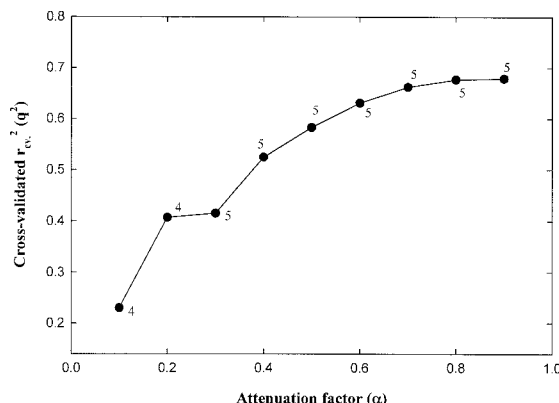


Fig. 5. Variation of  $q^2$  upon changing the attenuation factor,  $\alpha$  used in the distance dependence between the probe atom and the atoms of the molecules in CoMSIA model. (The number on the point indicates the optimum number of components: field fit alignment).

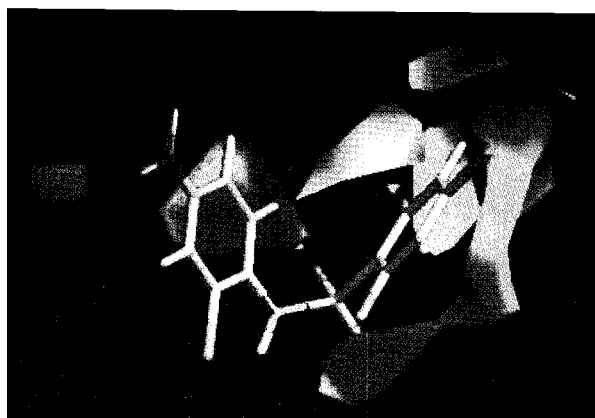


Fig. 6. The contour map of the CoMFA fields for N-phenylbenzenesulfonamide analogues. the steric and electrostatic fields ( $stdev \cdot coeff$ ). The most active compound (4) is shown in capped sticks. Green color denotes the contribution to steric favor and yellow color denotes the contribution to steric disfavor.

색(blue) 부분은 양하전일수록 살균활성에 기여하는 정전기장을 나타내고 있다. S-phenyl 고리의 C3 및 C4 원자상 R1-치환기는 양하전을 그리고 N-phenyl 고리의 치환기(R2-R5)는 넓은 범위에 걸쳐 산발적으로 음하전을 선호하는 치환기일수록 살균활성이 개선될 것으로 예측되었다. 소수성 (logP) 장에 관한 등고도 (HINT map)를 Fig. 8에 나타내었다. 색상에 따라 청록색(cyan)은 친수성 그리고 붉은색 (red)은 소수성이 클수록 살균활성이 증가되는 분자의 성질들을 의미한다. S-phenyl 고리상 R1-치환체로서 C2 및 C3원자 부분의 넓은 영역에는 친수성 치환기가 그리고 N-phenyl 고리의 C4

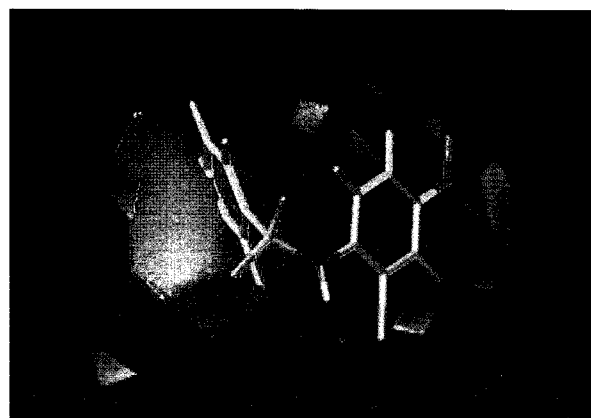


Fig. 7. The contour map of the CoMFA fields for N-phenylbenzenesulfonamide analogues. the electrostatic field ( $stdev \cdot coeff$ ). The most active compound (4) is shown in capped sticks. Red color denotes the contribution to negative charge favor and blue color denotes the contribution to positive charge.

원자 부분에 작은 크기의 소수성 치환기가 도입 될 경우에 살균활성이 증가될 것으로 판단되었다.

### CoMSIA 등고도

CoMSIA 모델(FF3)이 가지는 특성장에 의한 기여도를 분석하기 위하여 CoMSIA 등고도 Fig. 9, 10에 각각 나타내었다. CoMSIA의 경우, 통계적으로 가장 양호한 FF1 모델을 선택하지 않고 FF3 모델을 선택한 이유는 다음과 같다. 즉, Table 3에 근거하여 두 모델(FF3 및 FF1)의 통계값 차이가 크지 않을뿐 아니라, FF1 모델에 비하여 FF3 모델로부터 효소와 기질간의

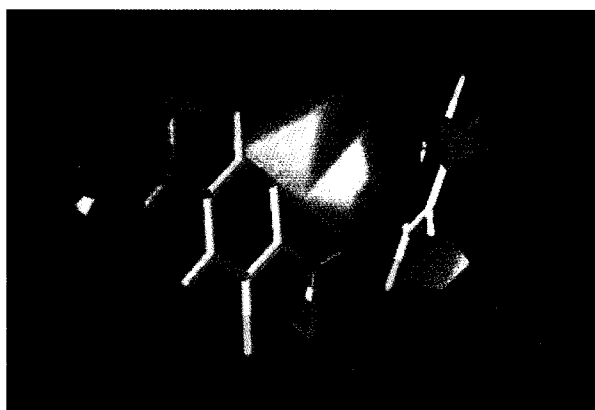


Fig. 8. CoMFA-HINT contour map for hydrophobic field (stdev\*coeff) for N-phenylbenzenesulfonamide analogues. The most active compound (4) is shown in capped sticks. Cyan color denotes the contribution to hydrophilicity while red color signifies contribution to hydrophobicity. (hydrophobic favor: 80%, hydrophilic favor: 20%).

상호작용에 있어서 매우 중요한 수소결합(HA)에 대한 정보를 추가로 얻을 수 있기 때문이었다. CoMSIA 모델(FF3)의 기여도는 정전기장 52.5%, 소수성장이 28.4% 그리고 수소결합 받게장이 19.1%로 정전기장이 가장 크게 기여하였다.

먼저, CoMSIA 모델(FF3)의 정전기장에 관한 등고도를 Fig. 9에 나타내었다. CoMFA의 경우와 마찬가지로 등고도 상, 푸른색(blue)은 양하전 그리고 붉은색(red)은 음하전의 증가가 활성화에 기여하는 정전기장을 나타낸다. CoMFA와 유사하게 C2 원자상 R1-치환기는 양하전을 선호하는 치환기가 그리고 N-phenyl 고리상 R4-치환기는 음하전을 선호하는 치환기일수록 살균활성을 증대시키는 것으로 판단된다. 또한, CoMSIA 소수성장과 수소결합장에 관한 등고도를 Fig. 10에 나타내었다. 등고도의 노란색(yellow)은 치환체가 소수성을 그리고 흰색(white)은 친수성을 선호 할수록 활성의 증대를 나타낸다. 또한, 보라색(magenta)은 수소결합 받게를 선호하는 치환기 그리고 청록색(cyan)은 수소결합 받게를 선호하지 않는 치환기가 도입 될 경우에는 살균활성이 개선됨을 의미한다. N-phenyl 고리상 R4-치환기와 sulfonyl 기(SO<sub>2</sub>) 부분은 수소결합 받게가 그리고 R5-치환기는 수소결합 받게를 선호하지 않는 치환기가 도입되었을 경우에 또한, S-phenyl 고리의 C4 원자상 R1-치환기가 작은 친수성을 나타내는 경우에는 살균활성이 증가할 것으로 예상되었다. 그러나 특히, R4-치환기의 친수성과 수소결합 받게로서의 성질이 클수록 살균활성이 증가할 것으로 예상되었다.

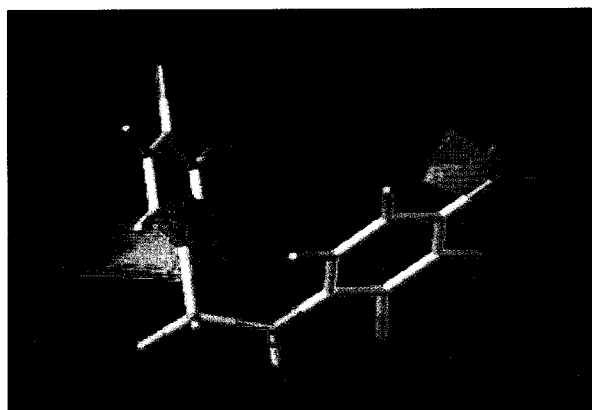


Fig. 9. The contour map of the CoMSIA fields (FF3 model) for N-phenylbenzenesulfonamide analogues. Electrostatic field (stdev\*coeff). The most active compound (4) is shown in capped sticks. Blue color denotes the contribution to positive charge while red color denotes the contribution to negative charge.

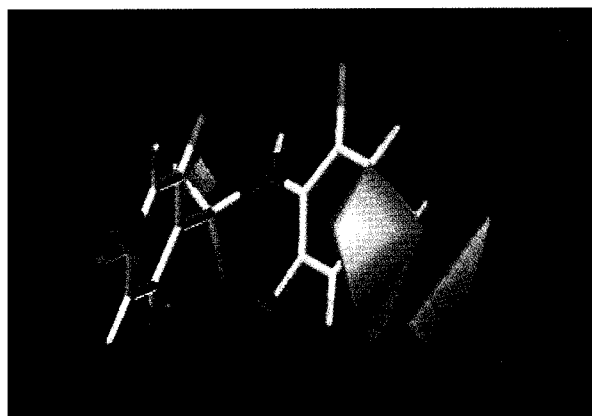


Fig. 10. The contour map of the CoMSIA fields (FF3 model) for N-phenylbenzenesulfonamide analogues. Hydrophobic and H-bond acceptor fields (stdev\*coeff). The most active compound (4) is shown in capped sticks. Yellow color denotes the contribution to hydrophobicity and white color denotes the contribution to hydrophilicity. And magenta color denotes the H-bond acceptor favor while cyan color denotes the H-bond acceptor disfavor.

이와 같이 등고도는 모델이 가지고 있는 정보를 3차원 구조상에 나타낸 것으로 방향족 고리상에 결합된 치환기로서 거론된 치환기들의 전자 끌개로서의 세기는 Hammett의 치환기 상수( $\sigma_p$ )를 기준으로 NO<sub>2</sub> (0.78)>CF<sub>3</sub>(0.54)>Cl(0.22)>>CH<sub>3</sub>O(-0.28) 이다.

따라서 치환기가 전자를 밀수록 치환기내 양하전의 편재화가 큰 반면에 전자를 끌수록 치환기내 음하전의 비편재화가 커지게 된다. 그러므로 치환기의 음하전이 크면 수소결합 받게로서의 성질( $\beta$ )이 증가하고 치환기의

Table 4. Summary of the statistical results for the optimized 3D-QSAR model<sup>a)</sup>

Models <sup>a)</sup>	Statistical parameters	Values	Contribution	Ratio(%)
CoMFA: AF5	Cross-validation $r_{cv}^2$ <sup>b)</sup>	0.616	Steric	59.4
	Non-cross-validation $r_{ncv}^2$ <sup>c)</sup>	0.930	Electrostatic	35.2
	Standard error of estimate, $SE_{ncv}$ <sup>d)</sup>	0.101	Hydrophobic	5.5
	F-value <sup>e)</sup>	79.883		
CoMSIA: FF1	Cross-validation $r_{cv}^2$ <sup>b)</sup>	0.674	Electrostatic	62.0
	Non-cross-validation $r_{ncv}^2$ <sup>c)</sup>	0.964	Hydrophobic	38.0
	Standard error of estimate, $SE_{ncv}$ <sup>d)</sup>	0.074		
	F-value <sup>e)</sup>	123.743		

<sup>a)</sup>Number of molecules in training set; 29 and number of molecules in test set; 5 <sup>b)</sup>cross-validated  $q^2$ , <sup>c)</sup>non-cross-validated  $r^2$ , <sup>d)</sup>standard error estimate, <sup>e)</sup>fraction of explained versus unexplained variance.

Table 5. Observed the fungicidal activities (*obs.pI<sub>50</sub>*) against *Pythium ultimum* of N-phenylbenzenesulfonamide analogues and predicted inhibition activities (*pred. pI<sub>50</sub>*) of the test set compounds by optimized CoMFA & CoMSIA models

No.	Substituents (R)					<i>pI<sub>50</sub></i>	CoMFA		CoMSIA	
	1	2	3	4	5		Pred. <sup>a)</sup>	Dev. <sup>c)</sup>	Pred. <sup>b)</sup>	Dev. <sup>c)</sup>
1	4-Br	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	5.08	5.24	-0.16	4.35	0.73
11	4-Br,2-CF <sub>3</sub> O	Cl	H	NO <sub>2</sub>	H	4.10	4.42	-0.32	4.90	-0.80
17	4-CH <sub>3</sub> O	H	H	CF <sub>3</sub>	H	4.37	4.00	0.37	3.72	0.65
21	3,4-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub>	H	H	CF <sub>3</sub>	H	3.98	4.06	-0.08	3.82	0.16
27	4-Br	H	CF <sub>3</sub>	F	H	4.57	4.45	0.12	4.62	-0.05
	AVE. <sup>d)</sup>							0.21		0.60

<sup>a),b)</sup>predicted values by the optimized models; CoMFA (AF5) and CoMSIA (FF1), <sup>c)</sup>different between observed and predicted value, <sup>d)</sup>average residual.

양하전이 크면 수소결합 주계로서의 성질(α)이 증가하게 된다. 따라서 기질분자의 구조상 CoMFA 및 CoMSIA의 분포에 관한 논의는 평균적인 경향을 설명하는 것이므로 치환기 별로 단편적인 비교는 합리적이지 않다. 왜냐하면, 생물활성은 입체성, 정전기성 및 소수성 뿐만 아니라, 여러 가지 복합적인 요소들이 관여함으로써 나타나는(Kubinyi, 1993) 현상으로 설명되기 때문이다.

### 두 모델의 예측성

전반적으로 CoMSIA 모델들의 통계값은 atom base fit (AF) 정렬보다는 field fit (FF) 정렬시에 높은값을 나타내었으나 CoMFA 모델의 경우에는 정렬방법에 따라 큰 차이가 없었다. 그러나 가장 양호한 두 모델(CoMFA: AF5 및 CoMSIA: FF1)을 유도하는데 사용된 training set에 있어서(Table 1) 관측된 살균활성 (*obs.pI<sub>50</sub>*)과 두 모델에 의하여 예측된 살균활성값 (*pred.pI<sub>50</sub>*)의 차이(Dev.)에 대한 평균값(AVE.)과 PRESS 값을 비교한 바, CoMFA보다 CoMSIA 모델 이 더 작은 값을 나타내므로서 CoMSIA 모델이 CoMFA 모델 보다 비교우위적으로 양호한 모델이었다. 또한, AVE.

값이 관측값의 10%이내 값을 나타내므로 유도된 두 모델들의 예측성이 양호하다고 판단되었다. 따라서 Table 4에는 가장 양호한 두 모델(AF5 및 FF1)의 통계값들을 요약하였다. 이 자료에 따르면 두 모델의 예측성( $r_{cv}^2$  또는  $q^2$ )은 CoMFA AF5 모델  $r_{cv}^2=0.616$ 보다 CoMSIA FF1 모델( $r_{cv}^2=0.674$ )의 예측성이 양호하였다. 또한, Table 5에는 test set 화합물의 모잘록병균 (*Pythium ultimum*)에 대하여 관측된 살균활성값(*obs.pI<sub>50</sub>*)과 두 모델(AF5 및 FF1)에 의한 예측된 살균활성값 (*pred.pI<sub>50</sub>*) 그리고 이들 두 값의 차이(Dev.)를 정리하였다. CoMSIA 모델에 비하여 CoMFA 모델에 의한 차이값이 상대적으로 적은 값을 나타내므로 test set 화합물에 대하여는 CoMFA 모델의 예측성이 CoMSIA 모델 보다 낮은 경향이였다.

이상과 같은 검토 결과로부터 N-phenylbenzenesulfonamide 및 N-phenyl-2-thienylsulfonamide 유도체들의 3차원적인 정량적 구조와 작물의 모잘록병균 (*Pythium ultimum*)에 대한 살균 활성과의 관계 (3D-QSAR)에 관한 CoMSIA 모델(FF1 및 FF3)이 CoMFA 모델(AF5)보다 예측성과 상관성이 양호한



모델이었으며 등고도 분석으로 구조와 활성과의 관계(QSAR)를 이해함으로써 살균활성이 개선된 새로운 분자를 설계하는데 효과적으로 이용될 수 있다.

### 인용문헌

- Akamatsu, M. (2002) Current State and Perspectives of 3D-QSAR, *Curr. Topics Med. Chem.* 2:1381~1394.
- Bouissane, L., S. El Kazzouli, S. Leonce, B. Pfeiffer, E. M. Rakib, M. Khouili and G. Guillaumet (2006) Synthesis and biological evaluation of N-(7-indazolyl) benzene- sulfonamide derivatives as potent cell cycle inhibitors, *Bioorg & Med Chem.* 14:1078~1088.
- Clark, M., R. D. Cramer III, D. M. Jones, D. E. Patterson and P. E. Simeroth (1990) Comparative molecular field analysis (CoMFA). 2. Toward its use with 3D-structural databases, *Tetrahedron Comput. Methodol.*, 3:47~59.
- Cramer, R. D., D. E. Patterson and J. D. Bunce (1998) 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 (1988) Cross-validation, Bootstrapping, and partial least squares compared with multiple regression in conventional QSAR studies. *Quant. Struct. Act. Relat.* 7:18~25.
- De Benedetti, P. G. (1987) *Advances in Drug Research* ed. B. Testa, 16, pp.227~279, Academic Press, London and New York.
- De Benedetti, P. G. (1991) *In Progress in drug research*, ed. Jucker, pp.361~417, E., Birkhäuser Verlag, Basel.
- Eliopoulos, G. M. and R. C. Moellering Jr (1991) *Antibiotics*. Ch. 13. *In Laboratory medicine*, 3th ed., Lorian, V., Williams & Willkins, Batimore,
- Kang, J. G., J. H. Hur, S. J. Choi, G. J. Choi, K. Y. Cho, L. N. Ten, K. H. Park and K. Y. Kang (2002) Antifungal activities of N-arylbenzenesulfonamides against phytopathogens and control efficacy on wheat leaf rust and cabbage club root diseases. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66:2677~2682.
- Kellogg, G. E., S. F. Semus and D. J. Abraham (1991) HINT: A new method of empirical hydrophobic field calculation for CoMFA. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 5:545~552.
- Kerr, R. (1994) Parallel helix bundles and ion channels: molecular modeling via simulated annealing and restrained molecular dynamics. *Biophys. J.* 67:1501~1515.
- Kim, K. K., J. G. Kang, S. S. Moon and K. Y. Kang (2000) Isolation and identification of antifungal N-butylbenzenesulphonamide. *J. Antibiotics.* 53:131~136.
- Klebe, G. (1993) *In 3D-QSAR Drug Design, Theory, Methods and Applications: Structural Alignment of Molecules.* (ed. Kubinyi, H.), ESCOM. Leiden pp.173~199.
- 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.
- Klebe, G and U. Abraham (1999) Comparative molecular similarity indices analysis (CoMSIA) to study hydrogen-bonding properties and to score combinatorial libraries. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* 13:1~10.
- Kubinyi, H. (1993) *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*, VCH. New York. Ch. 3-5.
- Mandell, G. L. and W. A. Petri Jr. (1995) Antimicrobial agents: sulfonamides, trimethoprim- sulfamethoxazole, quinolones and agents for urinary tract infections. *In The pharmacological basis of therapeutics*, 9th ed., Hardman, J. G., New York, Mcgraw-Hill, pp.716~722.
- Marshall, G. R., C. D. Barry, H. E. Bosshard, R. A. Dammkoehler and D. A. Dunn (1979) *In Computer-assisted drug design: The conformational parameter in drug design; active analog approach.* (ed. Olsen, E. C. and Christoffersen, R. E.), American Chemical Society, Washington, D.C., pp.205~226.
- Purcell, W. P. and J. A. Singer (1967) A brief review and table of semiempirical parameters used in the Hückel molecular orbital method. *J. Chem. Eng. Data* 12:235~246.
- Sung, N. D., P. K. Myung and K. Y. Park (2005) CoMFA and CoMSIA on the inhibition of calcineurin-NFAT signaling by blocking protein-protein interaction with

- N-(4-oxo-1(4H)-naphthalenyldene)benzenesulfonamide derivatives, Bull. Korean Chem. Soc. 26:1941~1945.
- Tomlin, C. D. S. (2003) The Pesticide Manual. 13rd Ed., British Crop Protection Council. Hampshire, UK.
- Tripos, S. (2001) Molecular Modeling and QSAR software on CD-Rom (Ver. 7.1), Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO. 63144-2913, U.S.A.,
- Zani, F. and P. Vicini (1998) Antimicrobial activity of some 1,2-benzisothiazoles having a benzenesulfonamide moiety. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. 331:219~223.

---

**CoMFA and CoMSIA Analysis on the Fungicidal Activity against Damping-off (*Pythium ultimum*) with N-phenylbenzenesulfonamide Analogues**

Seok-Chan Jang, Kyu-Young Kang,<sup>1</sup> and Nack-Do Sung\* (*Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-784, Korea, <sup>1</sup>Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea.*)

**Abstract :** Three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSARs) on the fungicidal activity against damping-off (*Pythium ultimum*) with N-phenylbenzenesulfonamide and N-phenyl-2-thienylsulfonamide analogues (**1-34**) were studied quantitatively using CoMFA (comparative molecular field analysis) and CoMSIA (comparative molecular similarity indices analysis) methodologies. On the whole, the statistical qualities of CoMSIA models with field fit alignment (FF1-FF5) were slightly higher than that of atom based fit alignment (AF1-AF5) but, the deviations of statistical quality between two alignments in case of CoMFA models were slightly lower. The statistical results of CoMFA and CoMSIA model showed that the optimized CoMSIA model (FF1:  $r_{cv}^2$  ( $q^2$ )=0.674 &  $r_{ncv}^2$ =0.964) for damping-off is better predictability and fitness for fungicidal activities than CoMFA model (AF5:  $r_{cv}^2$  ( $q^2$ )=0.616 &  $r_{ncv}^2$ =0.930). The fungicidal activities according to the information of the CoMSIA (FF1) model were dependence upon the electrostatic and hydrophobic field of the N-phenylbenzenesulfonamide analogues. Therefore, from the results of graphical analyses on the contour maps with CoMSIA (FF3) model, it is expected that the characters of R4-substituent on the N-phenyl ring as hydrophobic and hydrogen bond acceptor will be contributed to the fungicidal activity against damping-off.

Key words : CoMFA, CoMSIA, fungicidal activity, N-phenylbenzenesulfonamides, N-phenyl-2-thienylsulfonamides, damping-off (*Pythium ultimum*).

---

\*Corresponding author (Fax :+82-42-825-3306, E-Mail : ndsung15@hanmail.net).