

致癌有机化合物分子片段致癌机理的研究*

刘征涛 孔令仁 韩朔睽 王连生

(南京大学环境科学与工程系, 南京 210093)

摘要 以有机物的分子连接性指数和微扰分子轨道指数作结构、能量参数, 从分析致癌有机物分子片段与生物遗传基因 DNA 链互补碱基对发生共价交联的构效角度出发, 首次得出产生碱基移码型或碱基置换型化学致癌的主要过程是化合物分子片段中活性原子与 DNA 互补碱基对间氢键的共价结合, 显示致癌活性的充分必要条件是碱基对 $G \equiv C$ 间有两个氢键与致癌分子片段发生特异交联。对 100 余种已知致癌物的致癌分子片段进行计算分析, 成功地获得了有机物分子片段定量结构-致癌活性的估测模式。

关键词 致癌分子片段 DNA 碱基对 微扰分子轨道 分子连接性

致癌机理的定量化研究是当前化学致癌理论发展的重要前沿领域, 自 Pullman 等根据分子轨道计算提出 K 区理论^[1], Mill 等提出亲电理论^[2], Jerina 等得出湾区理论^[3]及戴乾圜发展的双区理论^[4]以来, 对系列化合物致癌机制的研究已有一定的实验证明。在目前提出这些理论的致癌性估算模式中, 主要考虑化合物的结构或能量因素, 其基本立足点是对化合物分子结构中活性角环离域能或定域能与致癌活性之间相关程度的分析, 尚未充分体现癌变生物靶分子 DNA 的构效作用。因此, 为进一步全面地了解化合物(弹分子)与癌变生物靶分子之间的作用机理, 本文首次从分析致癌有机物分子片段与靶分子 DNA 互补碱基对之间相互作用的角度出发, 以分子连接性指数($^{\circ}X$)和微扰分子轨道(PMO)指数作为结构、能量参数进行弹-靶分子间构效关系的定量估测, 深入讨论有机化合物致癌过程的作用机理。

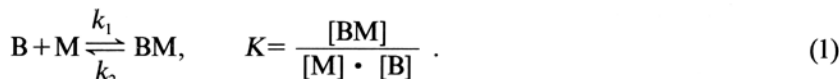
1 理论部分

Debnath 等根据电子理论讨论了多环芳烃(PAH)的致癌性^[5], 认为 PAH 分子中高电子密度区域发生活化作用, 电子从 PAH 流向生物大分子, 产生致癌效应。K 区和湾区理论中则指出^[1,3], 当 PAH 分子的 K 区、L 区复合定域能或分子湾区的离域能在一定数值范围内时, 分子具有致癌活性。戴氏通过对 49 个 PAH 的计算^[4], 在双区理论中提出化学品致癌的条件是化合物分子中存在两个亲电活性区域, 致癌过程的可能机制是 DNA 链间互补碱基移码变异。这些理论的基本立足点是对 PAH 分子结构中活性角环离域能或定域能与致癌性之间相关程度的分析。研究表明^[14], 化学品的致癌机制主要有 DNA 碱基置换型和移码型两种, 致癌剂可

分之直接致癌与诱导致癌两类。代谢产物的研究表明^[14], PAH 分子致癌的主要过程是在含细胞色素 P450 的氧化酶作用下, PAH 分子活性角环发生氧化代谢作用, 生成环氧物质并成为终致癌物而显示致癌活性。因而基于分析诱导型致癌剂 PAH 发展的致癌理论, 对于化学品致癌机理的全面解释仍需进一步完善。

1.1 理论模式

化合物与生物靶分子作用的动力学反应式可表示为:



(1)式中 B 为生物靶分子, M 为化合物, k_1, k_2 为反应速率常数, K 为平衡常数, 方括号中各项均为化合物浓度。生物效应 E 可表示为:

$$E = \frac{E_m \cdot [M]}{1/K + [M]} \quad (2)$$

(2)式中 E_m 为最大生物效应^[6]。将式(1)代入式(2)得,

$$E_k = \frac{E}{E_m} = \frac{[BM]}{[B] + [BM]} \quad (3)$$

(3)式中 E_k 为活性效应指数。对于弹-靶分子间一级动力学反应体系, 有

$$\frac{d[BM]}{dt} = K_1[B] - K_2[BM] \quad (4)$$

解(4)式得,

$$[B] = \frac{K_2[BM]}{K_1(1 - e^{-K^2 t})} \quad (5)$$

(5)式代入(3)式得,

$$E_k = \frac{K_1}{K_2} (1 - e^{-K^2 t}) \quad (6)$$

当反应平衡时, $K_1/K_2 = [BM]/[B]$, $t \rightarrow \infty$, $e^{-K^2 t} \rightarrow 0$, 则由(6)式得,

$$E_k = [BM]/[B] \quad (7)$$

经对数变换由(7)式得,

$$\log E_k = A \log [BM] - B \log [B] + C \quad (8)$$

(8)式中 A, B 为拟合系数, C 为常数项。

(7)、(8)式从理论上说明有机物生物活性指数取决于反应平衡时, 有机物与生物靶分子的结合量和靶分子含量。其中对于系列化合物作用于同类靶分子的构效反应, 由于靶分子特性相同, 在经验估测时, 忽略[B]的影响客观上也能得到较好的测算效果。例如在湾区、双区理论的实际应用中, 忽略靶分子的影响, 选用化合物的离域能作为化合物致癌活性参数, 由于化合物离域能的特性直接影响化合物与生物靶分子的结合性状, 其数值可看作相当于理论(8)式中的[BM]进行致癌估算, 得到了估测度很高的定量公式^[3,4]。研究资料表明^[1~3], 构效相关理论(8)式具有一定的普遍适用性。

1.2 分子片段作用机理

目前认为,生物细胞发生突变或癌变的主要途径是 DNA 链间互补碱基对发生变异,产生错误遗传信息而引发的。在经典 DNA 模型中,互补碱基间配对是 $A=T$, $G\equiv C$; 两碱基间以氢键结合; 氢键形成时,要求电子供体原子与受体原子之间氢键键长为 $0.28\sim 0.3\text{ nm}$ 。因此,要发生互补碱基对间移码型或置换型变异,关键步骤应是连接碱基间的正常氢键产生特异交联,导致匹配碱基对间的异常结合。双区理论指出^[4], PAH 中两亲电碳原子的最优致癌距离近于 0.28 nm , 这一距离因素说明分子中成对电子活性区与 DNA 碱基对间氢键的嵌合式交联是重要的,同时也佐证化学致癌过程主要发生于 DNA 链碱基对间氢键的变异。

为同时从分子反应的能量和结构两方面来论述化合物的致癌机制,阐明致癌靶分子 DNA 互补碱基间氢键发生变异的结构和能量效应,依据 K 区、湾区及双区等致癌理论研究结果^[1,3,4], 本文取分子离域能或定域能的决定因子微扰分子前沿轨道指数 (PMOP) 作能量参数, 以根据分子拓扑理论提出的分子连接性指数 ($^{\circ}X$) 为结构参数。并根据因子构成性原理, 将 PMOP 与 $^1X^{\circ}$ (一阶价指数) 的乘积 ES 作为分子或活性原子的致癌活性表征值, 对 A, T, G, C 碱基对间组成氢键的各原子及已知化学品体系, 皆看成以碳链为骨架的共轭模型, 把杂原子及含杂原子的 Π 键看成相应的碳原子和碳-碳键的微扰变化。考虑致癌区域多存在于分子中电子高密度区域^[1~3], 且氢键的形成主要由原子间电负性(电离势)决定, 而有机物分子中电离势较碳高的原子都可能与氢形成稳定氢键。因此, 以杂原子与碳原子之间电负性的比值作为杂原子系数代替相应碳原子系数参与实际 PMOP 的计算, 方法参见文献[7]。DNA 链互补碱基间氢键组成原子计算见图 1。

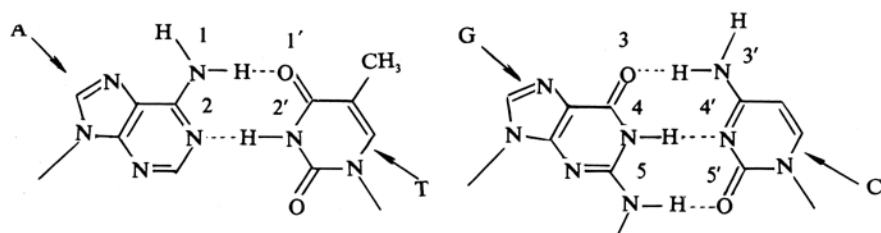


图 1 DNA 链碱基对间氢键组成原子 ES 值计算结果

1 为 0.728 7, 1' 为 0.819 1, 3 为 1.125 3' 为 0.587 1,
2 为 1.041, 2' 为 0.982 7, 4 为 0.675 1, 4' 为 0.810 3,
5 为 0.675 1, 5' 为 0.945 8

结果表明, 当同时考虑结构、能量因素时, 要使 $A=T$, $G\equiv C$ 的 N, O, H 原子形成正常氢键, ES 值必需达到图 1 所示数值。因此只要当化合物活性原子的 ES 值等于或大于 A, T, C, G 间组成氢键原子的 ES 值时, 该原子就可能与互补碱基间形成特异共价交联, 而使正常匹配的碱基产生移码型或置换型变异而引发癌症。由于 DNA 链上每 3 个碱基排列位置决定 1 个遗传密码子, 依据简并性原理及变偶学说^[8], 三联体密码子中必须有 2 个碱基位置专一才能形成稳定遗传。因而对于碱基移码或置换型癌变作用, 至少需密码子中 1 个碱基对产生稳定变异。碱基对 $G\equiv C$, $A=T$ 间分别由 3 个和 2 个氢键连接。图 1 所示 A, T 间组成氢键原子的最小值 (0.728 7) 大于 G, C 间 3 个原子的 ES 值 (0.587 1, 0.675 1, 0.675 1) 可见化合物活性原子

与 G, C 间氢键特异结合将较 A, T 间易进行. 研究表明^[1,3,4], 有机物的致癌作用多发生在弹分子的活性区域. 因此本文选用已知致癌物的致癌活性分子片段分析致癌过程, 将较以整个分子为单位的描述方法更为准确. 经过 135 种已知致癌物的致癌关键分子片段计算比较, 发现当分子片段中活性原子的 ES 值大于 0.675 1 时, 为可能致癌指标. 如前所述, 依据 Pullman, Jerina 等研究结果^[1,3], 选用化合物弹分子和生物靶分子的 ES 值作为致癌活性表征值, 分别看作理论式 (8) 中的 $\log [BM]$ 、 $\log [B]$, 引入 (8) 式, 得到的致癌活性 (K_c) 定量表达式为:

$$\text{Log } K_c = A \cdot ES_c - B \cdot ES_G \quad (9)$$

(9) 式中, $ES = \text{PMOP} \cdot {}^1X^\circ$, ES_c 为分子片段活性原子的 ES 值, ES_G 是碱基对 $G \equiv C$ 间 G 碱基上 2 个氢键组成原子的 ES 值 (文中取 0.675 1). A, B 为拟合系数 (文中取 1), 在具体应用中, 可根据不同的生物活性、生物种系及化合物类型等因素加以校正协调. 本文将致癌性分为 5 级: 非致癌 ($-$, $ES_c < 0.675$ 1), 可能致癌 (0 , $ES_c > 0.675$ 1), 弱致癌 ($+$, $ES_c > 0.819$ 1), 中致癌 ($++$, $ES_c > 1.041$), 强致癌 ($+++$, $ES_c > 1.125$). 计算表明 (表 2), 可得到相关性极高 (0.99) 的估测结果. 由此可见, 化学品致癌效应的充分必要条件是致癌分子片段与碱基对 $G \equiv C$ 间 2 个氢键的特异共价交联. 因此, 致癌弹分子片段共价交联于 DNA 碱基对氢键区域, 从而发生移码或置换型变异的致癌机制, 具有一定的理论意义.

2 讨论

方程式 (7)、(8) 表明化合物的生物活性由 $[B]$ 和 $[BM]$ 共同决定, 而 $[B]$ 、 $[BM]$ 值本质上又由弹-靶分子的结构和能量参数来表征. Kier 等根据分子拓扑理论发展的分子连接性指数^[9], 不需解复杂薛定谔 (Schrodinger) 方程, 就可依分子结构式的直观概念对分子结构性质作客观定量描述; 而交变烃原子的离域能或定域能值由 PMOP 指数决定, 所取 PMO 轨道是化合物反应中接受电子或给出电子的前沿轨道; 因而取分子连接性指数 (${}^1X^\circ$) 和分子片段中活性原子微扰轨道指数 (PMOP) 的构成性 ES 作为 $[B]$ 、 $[BM]$ 值的表征, 来估算致癌活性是较客观的. 本文首次以致癌分子片段的结构与能量特性为研究对象, 既能避免区域理论研究中因经验分区引起的偶然性差异或误判, 又可减少对整个分子进行分析计算带来的繁琐性和误差, 使化学品致癌研究中较模糊的弹-靶分子结合作用有一物理意义较明确的解释. 表 1, 2 中致癌化合物的动物致癌试验 (CA)、Ames 试验和由计算机自动得出的致癌分子片段测试结果由标准系统 NTP 和 IARC 提供^[10~12], 其中部分 Ames 结果在本实验室得到证实. 表 2 所示致癌片段中, 对于共有片段和非诱变片段, 碳链上都有电负性较大的活性原子 (O, N, Cl, Br 等) 存在, 其 ES_c 值均超过 0.675 1. 诱变性片段中, 当碳链上无电负性较大的原子时, C 原子的 ES_c 均小于 0.675 1, 因而需经活性原子诱导后才表现出致癌性, 这一计算结果与实验值基本相符 (99%). 计算中还注意到, 当主碳链片段上碳原子数多于 6 个时, 碳原子的 ES 值有可能大于 0.675 1, 而不直接显示阳性结果. 可见, 对无杂原子的有机物而言 (如 PAH), 活性原子的诱导激活看来是必须的. 在诱导致癌过程中, 致癌分子片段上碳原子由于受活性原子的诱导, 电子共轭地向电负性大的活性原子转移, 从而表现出质子 (正碳离子) 的亲电性, 这一结果也可较准确地解释以往化学品致癌理论描述中的亲电致癌过程.

表 1 致癌化合物测试结果^{a)}

化合物	CAS 登记号	Ames	CA	CASE
4-硝基邻氨基苯	99-56-9	+	+	+
1,3-二硝基苯 \$	99-65-0	+	+	+
一氯苯 \$	100-44-7	+	+	+
二乙醇亚硝基胺	1 116-54-7	+	+	+
N-亚硝基乙基脲	759-73-9	+	+	+
N, N-丁基亚硝基脲	6558-78-7	+	+	+
N, N-亚硝基甲基脲	684-93-5	+	+	+
黄曲霉素	126-07-8	-	+	+
环磷酸胺	50-18-0	+	+	+
甲醛	50-00-0	+	+	+
苯并(a)芘	50-32-8	+	+	+
巯基嘌呤	50-44-2	+	+	+
2-乙酰氨基苯	53-96-3	+	+	+
2-甲基对二甲胺基偶氮苯	54-88-6	+	+	+
二乙基亚硝胺	55-18-5	+	+	+
3-甲基对二甲胺基偶氮苯	55-80-1	+	+	+
7-甲基苯并(a)蒽	56-57-5	+	+	+
7, 12-二甲苯并(a)蒽	57-97-6	+	+	+
1-硝基糠胺	59-87-0	+	+	+
4-二甲胺偶氮苯	60-11-7	+	+	+
4-氨基偶氮苯	60-09-3	+	+	+
甲磺酸乙酯	62-50-0	+	+	+
二甲基亚硝胺	62-75-9	+	+	+
甲磺酸甲酯	66-27-3	+	+	+
三氯甲烷	67-66-3	-	+	+
六氯乙烷	67-72-1	-	+	+
N-甲基-N-亚硝基喹啉	70-25-7	+	+	+
苯 \$	71-43-2	-	+	+
双氯苯二氯乙烷	72-55-9	-	+	+
4, 4-硫酞二苯胺	80-08-0	-	+	+
对甲乙基磺酞苯	80-40-0	+	+	+
1-氨基-2-甲基蒽醌	82-28-0	+	+	+
N-亚硝基二苯胺	86-30-6	-	+	+
2, 4-二羟基喹啉	86-95-3	+	+	+
肉桂酸氨基苄酯	87-29-6	-	+	+
2, 4, 6-三氯酚 \$	88-06-2	-	+	+
2-氨基联苯 \$	90-41-5	+	+	+
3, 3-二氯联苯	91-94-1	+	+	+
4-氨基联苯	92-67-1	+	+	+
联苯胺	92-87-5	+	+	+
5-硝基苯并咪唑	94-52-0	+	+	+
噻吩	94-59-7	+	+	+
对甲苯胺 \$	95-53-4	+	+	+
邻苯二胺	95-54-5	+	+	+
2, 4-二氨基甲苯 \$	95-80-7	+	+	+
4-氯间苯二胺 \$	95-83-0	+	+	+
氧化苯乙烯	96-09-3	+	+	+
1, 2-二溴-3-氯丙烷	96-12-8	+	+	+
邻氨基偶氮甲苯	97-56-3	+	+	+
三氯甲苯 \$	98-07-7	+	+	+
五硝基邻甲苯胺 \$	99-55-8	+	+	+

a) 表中 Ames, CA, CASE 数据取自文献[10,11]。"- "为阴性, "+"为阳性结果。限于篇幅,表中只列出部分数据, \$, Ames Test 经本实验室验证,方法见文献[13]

表 2 致癌分子片段活性原子能量结构值^{a)}

类别	编号	分子片段	原子	PMOP	¹ X ⁿ	ES _C	致癌等级 判别	实测
A	1	CH ₂ —CO—NH—N—	O	0.701	1.178	0.824 6	+	+'
	2	CH ₃ —NH—NO—	O	0.988	0.906	0.895 1	+	+'
	3	CH=CH—CH=CH—CH=COH—	O	0.571	1.651	0.943 1	+	+'
	4	CO—CH ₂ —CH ₂ —CO—	O	0.701	1.788	1.251 6	+++	+'+'
	5	C1—C.—C.—	C1	0.848	0.852	0.723 1	0	+'
	6	C1—C.=C.—	C1	0.848	1.028	0.872 3	+	+'
	7	C1—C=C.—C=C—C.=C—	C1	0.601	2.308	1.384 8	+++	+'+'
	8	C1—C=C.—C=C—	C1	0.693	1.564	1.084 7	++	+'
	9	C1—C=C—C=CH—	C1	0.693	1.688	1.170 8	+++	+'+'
	10	C1—C=CH—CH=C—	C1	0.694	1.642	1.138 9	+++	+'+'
	11	C1—C=CH—C=CH—	C1	0.693	1.352	0.937 7	+	+'
	12	CO.=CH—C=C—	O	0.809	1.031	0.834 3	+	+'
	13	CO=CH—C.=C—Cl—	O	0.536	1.597	0.857 4	+	+'
	14	O—CH ₂ —CH ₂ —O—	O	0.575	1.816	1.041 5	++	+'
B	1	NO ₂ —C=CH—	O!	0.989	0.953	0.943 6	+	+'
	2	NH—C.—C=	N	0.848	0.755	0.640 6	—	—
	3	C.=CH—C.—N=	N	0.600	0.980	0.588 4	—	—
	4	CH ₂ —CO—CH—	O!	0.989	0.911	0.901 9	+	+'
	5	C.—CH ₂ —Br	Br	0.791	0.905	0.640 2	—	—
	6	CH ₂ —N—CH ₃	N	0.848	0.763	0.647 7	—	—
	7	CH ₂ —CO—C=	O!	0.989	0.847	0.839 2	+	+'
	8	CH ₃ —N—C=CH—CH=C—CH	N!	0.601	1.866	1.119 6	++	+'
	9	CH ₃ —O—C=CH—CH=	O!	0.808	1.230	0.994 1	+	+'
	10	CH=C—CH=CH=C—CO—C	O!	0.702	1.936	1.355 2	+++	+'+'
	11	CH=CH—C=C—NH ₂	N!	0.692	1.151	0.797 1	0	+'
	12	CH=CH—O—C.H—O—C.=	O!	0.808	1.271	1.027 3	++	+'+'
	13	CO—C.=CH—CH=C—	O!	0.808	1.473	1.190 1	+	+'
	14	CO—C.=CH—CH=C—	O!	0.808	1.032	1.063 9	+	+'
	15	—CO—Br	O!	0.789	1.132	0.934 7	+	+"
	16	CO—N—CO—	O!	0.989	0.855	0.845 8	+	+'
	17	C1—CH ₂ —C=CH—N=	C1!	0.577	1.696	0.979 6	+	+'
C	1	CO=N—CO=	O	0.989	0.874	0.865 3	+	+'
	2	C=CH—NH—C=CH—CH=	N	0.489	1.691	0.689 8	0	+'
	3	CH—CH ₂ —Br—	Br	0.791	1.132	0.896 6	+	+'
	4	CH ₃ —CH ₂ —NH—	N	0.848	1.061	0.899 6	+	+'
	5	CH ₃ —NH—CH ₂ —	N	0.845	0.788	0.724 2	0	+'
	6	CH ₃ —O—CH=CH—	O	0.701	1.029	0.720 4	0	+'
	7	CH ₃ —O—C.—C—CH—	O	0.808	1.151	0.929 6	+	+'
	8	CH—C—NH—C=C.—C=	N	0.489	1.492	0.856 2	+	+'
	9	CH—CO—C=CH—C=	O	0.808	1.377	1.080 5	++	+'
	10	CH ₂ —CH ₂ =CH—NH ₂ —	N	0.848	1.074	0.911 4	+	+'
	11	CH=C—C1—C.=CH—	C1	0.601	1.392	0.835 8	+	+'
	12	SO—C=CH—CH=	O	0.808	1.279	1.033 9	+	+'

a) 表中 A, B, C, 分别为共有致癌片段, 诱导致癌片段, 非诱导致癌片段; 参见文献[10~12]。限于篇幅, 表中只列出部分数据; ! 为诱导性主原子。"." 为活性原子诱导位点; -, 0, +, ++, +++, 分别为非致癌, 可致癌, 弱致癌, 中致癌, 强致癌; +' 为致癌性, +'+' 为强致癌性(表 1 结果)

3 结论

(1)通过对化学与生物反应物弹-靶分子间作用模式的探讨,得到的理论式为化学品结构与活性的研究提供了依据,从而在理论上说明有机化合物致癌过程由 DNA 碱基对和致癌化合物结构与能量因数共同决定。

(2)从分析 DNA 互补碱基对与致癌分子片段发生共价交联的角度出发,首次得出有机化合物致癌的主要过程是分子片段中活性原子与 DNA 互补碱基间氢键的特异共价结合,显示致癌性的充分必要条件是碱基 $G \equiv C$ 间 2 个氢键与致癌片段的活性原子特异交联。

(3)本文提出的分子片段致癌理论,对以往化学品致癌理论研究中尚不清晰的状况作了进一步阐明,经对 100 余种已知致癌物的计算验证表明,分子片段结构-致癌活性估测模式具有一定的普遍性。

参 考 文 献

- 1 Pullman A, Pullman B. Electronic structure and carcinogenic activity of aromatic molecules. *Advan Cancer Res*, 1955, 3: 117~159
- 2 Miller E C. Some current perspective on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals: presidential address. *Cancer Res*, 1978, 38(6): 1479~1496
- 3 Jerina D M, Lehr R E. The bay region theory. In: Ullrich V, Roots I eds. *Microsomes and Drug Oxidation*. Oxford: Pergamon Press Inc, 1977. 709~720
- 4 戴乾圃. 化学致癌剂及化学致癌机理的研究-多环芳烃致癌性能的定量分子轨道模型. *中国科学*, 1979, (5): 964
- 5 Debnath A R, de Compodre R L L, Debnath G. Structure-activity relationship of mutagenic aromatic and heteraromatic nitro compounds. *J Med Chem*, 1991, 34: 786~797
- 6 Martin Y C. 定量药物设计. 王尔华译. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 78~80
- 7 Dewar M J S. *The PMO Theory of Organic Chemistry*. New York: Plenum Press, 1975, 112~178
- 8 Crick F H C. Codon-anticodon pairing: The wobble hypothesis. *J Mole Biol*, 1966, 19: 548~555
- 9 王连生, 支正良. 分子连接性与分子结构-活性. 北京: 中国环境科学出版社, 1992. 12~24
- 10 Klopman G, Frierson M R. The structural basis of the mutagenicity of chemicals in salmonella typhimurium. *Mutation Res*, 1990, 228(1): 1~81
- 11 Ashby J, Tennant R W. Classification according to chemical structure mutagenicity to salmonella and lever of carcinogenicity. *Mutation Res*, 1989, 223(2): 73~102
- 12 Fu Zhongdian. Recongition of the molecular structures of genotoxic and non-genotoxic carcinogens. *Carcin Terat Muta*, 1993, 5(2): 46
- 13 Maron D M, Ames B N. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutat Res*, 1983, 113: 173~215
- 14 Wood A W, Chang R, Levin W. Mutagenicity of the bay-Region diol-epoxides and other benzo-ring derivative of dibenzo (a, h) pyrene and dibenzo (a, i) pyrene. *Cancer Res*, 1981, 41: 2589~2596