

芳胺结构致癌活性关系的双区 理论定量阐释*

戴乾圜 郑菁英 王宗一

(北京工业大学癌化学与生物工程中心, 北京 100022)

摘 要

本文将双区理论定量地推广到 63 种芳胺的定量结构致癌活性关系上, 借氨基亚氮阳离子与环上环氧化物的双官能烷化作用的观点, 建立了芳胺结构与致癌性能间的定量关系式, 计算与实验的一致达 98%。从而将芳胺类难以捉摸的致癌性能变化, 表达为可以理解的结构化学活性关系。

关键词: 芳香胺, 双区理论, 致癌机理, 结构与致癌活性关系, 转录基因致癌说

文献[1]提出的双区理论, 使过去令人迷惑难解的 SCAR (结构致癌活性间关系) 出现了根本性的变化, 并使大多数致癌剂类型^[2,3]包括 N-亚硝基化合物^[4]的 SCAR 表达为可以理解的结构化学, 物理性质关系。1983 年曾讨论过芳胺类的 SCAR^[3], 现重新修改发表。

一、双区理论的实验证据

1969 年 Huebner 和 Todaro 根据致癌病毒的研究, 提出了“致癌基因”说^[1], 认为在高等动物中, 潜在着一种异常的、有害的, 来源于一切生物的祖先即病毒的原祖粒子, 称为“致癌基因”, 它一旦被化合物、病毒或物理因素所诱发, 则产生癌变。在这一假说的指导下, 研究了在病毒“致癌基因”的细胞中对应物, 称为“原祖致癌基因”, 至今已发现了 17 种以上^[6]。

为了解释双区理论所发现的致癌作用所需要的特定双官能烷化过程, 1979 年戴乾圜推论指出^[1]: “这种互补移码变异使产生转录酶的基因发生突变, 从而导致产生逆转录酶的信息。错误的互补移码变异的 DNA, 可能作为可以进行自我复制的体系在染色体中潜伏下来, 其所产生的类逆转录酶系, 又可能将其错误的 RNA 信息, 通过逆转录而整合到正常的 DNA 上。于是起破坏作用的逆转录机制, 与细胞中的起修复作用的机制, 达成对抗性的平衡。经过一定的潜伏期, 或其它因素的诱发, 于是可能引起癌瘤”。并在继后的工作中指出, 双区理论对化学、物理和病毒致癌的普遍意义^[2,3]。因此, 双区理论与致癌基因说相对立, 认识到诱发致癌作用的关键基因不是一种异常的基因, 相反却是在生命活动中最为重要的正常基因, 即转录基

本文 1989 年 7 月 3 日收到, 1990 年 1 月 11 日收到修改稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

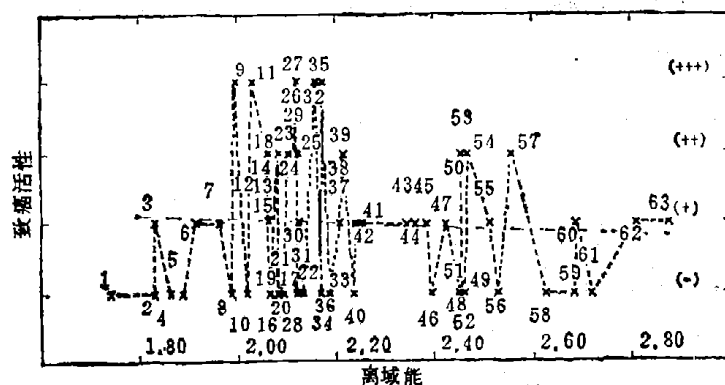


图 3 芳胺亚氮阳离子离域能与其致癌活性关系

过程。实际上，芳胺中氨基异环(以下简称异环)上的代谢与苯系多环芳烃母体的代谢是一致的，也是经过环氧化物再经 NIH 移位而生成酚。实际证明：细胞色素 P-450 的活性与环上代谢的趋势密切相关，表明了经历环氧化物的重要性。同时，酚通过环氧化物的生成，发现可以简单 HMO 方法作出相当准确的预言。

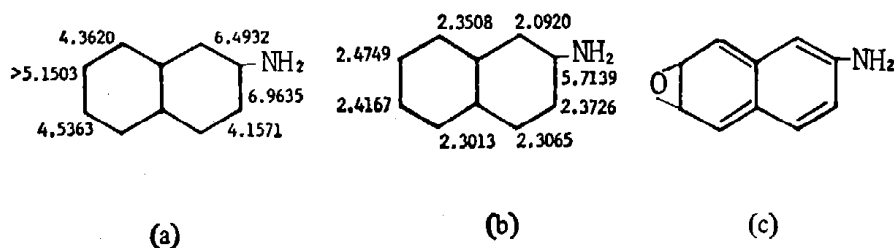


图 4 2-萘胺分子的键定域能和阳离子的原子定域能

现以图 4 中的 2-萘胺为例，当在异环的 6,7-位上发生环氧化时，将引起另一苯环的定域(图 4 (c))，其计算值只有 4.2443β ，若以苯乙烯与辛四烯 HMO 总能差值 0.9060β 校正，则至少在 5.1503β 以上。因此，环氧化物在异环上形成的趋势为 7,8-位 $>$ 5,6-位 $>$ 6,7-位(图 4 (a))。而 NIH 移位时，羟基将优先在定域能较小的位置上生成。同一键上，两种酚的形成趋势为定域能的差值所决定。因而酚的形成趋势为 8-位 $>$ 7-位 ($\Delta\Delta E = 0.1289$) 和 5-位 $>$ 6-位 ($\Delta\Delta E = 0.1154$)。合并两种趋势，则应有 8-位 $>$ 5-位 $>$ 6-位 $>$ 7-位酚的形成趋势。有意思的是，我们实验室已送审的 2-萘胺大鼠肝匀浆的体外代谢实验，分离的异环上酚的含量，正好与上述次序符合，可能并非偶然的巧合。氨基同环(简称同环)的代谢，由于氨基的极性，代谢将优先在氨基上进行。因此主要是生成羟胺再经 Bamberger 重排，在离子定域能较小的 1-位上生成酚^[10]。3,4-位应可预期分离出二氢二醇或脱氢的二酚，但至今尚未见报道。这也有可能氨基抑制同环环氧化有关。因此，异环上酚的形成不是经直接羟化，而是与母体多环芳烃类似，即首先环氧化后，再经 NIH 移位而生成酚。异环的代谢具有两重性质，其中间的环氧化物是有益于致癌的烷化剂，而生成的酚则有利于代谢脱毒。N-羟基化合物与环氧化物则是致癌双官能烷化中的两个活性体。

因此，芳胺的代谢产物也可按双区理论分为三类^[4]，即非活性体，待激活体和有效活化体，后者可为双官能烷化剂或已与 DNA 单官能烷化结合后再进一步活化的双官能烷化剂。可

以预言, 2-萘胺在 DNA 中引起的横向交联, 或在 DNA 与组蛋白间引起的横向交联, 主要是在氮原子与 7-位碳之间形成。

三、芳胺双官能致癌机理的结构与致癌性能关系

下面我们列举若干实例, 以证明碳环上环氧化物形成对致癌作用的重要性。

2-乙酰氨基苄或 2-氨基苄强力致癌, 但 9, 9-二甲-2-氨基苄则没有致癌活性。我们曾经总结实验事实指出^[13]: 环氧化物的生成要求芳环首先平伏于单氧酶的表面, 而再趋向活性中心。氮原子上空间阻碍很大的叔丁胺, 其 N-羟基化物也可顺利地代谢形成^[14]。9-位上的两个甲基正是阻碍了碳环上环氧化物的生成, 从而抑制了另一个活性区的生成。2-乙酰氨基苄的 7-位是预期发生环氧化的最佳位置。2-乙酰氨基苄的 7-位被氟原子取代时, 由于氟原子的半径很小, 不会妨碍 6, 7-位或 7, 8-位的环氧化, 因此其活性并不比母体为低。而 7-位被空间半径较大的 Cl 或 CH_3O — 所取代时, 与其受电子或给电子能力无关, 活性皆显著地降低。7-位被半径更大的碘所取代时, 则活性完全丧失, 表明了环氧化物形成的重要性。

2-氨基苄分子由于 9-位亚甲基的束缚, 两苯环处于同一平面上。4-氨基联苯两苯环的最有利位置应与联苯的构象类似, 可能也互呈 20° 左右的扭转角, 这在一定程度上妨碍其 3', 4'-位环氧化物的生成, 因此其致癌活性较 2-氨基苄为弱。同时, 4'-位取代基的空间体积增大, 对其活性的降低也较平面性的 2-氨基苄分子起着更大的作用。实际上 4'-位被 Cl, CH_3 — 和 Br 取代时, 由于妨碍环氧化物的生成皆没有致癌活性。

反之, 根据芳胺的 SCAR 事实, 氨基并非如传统观点所认为的仅仅只是对致癌的烷化发挥作用, 实际上它在一定条件下对分子的代谢脱毒也会产生重要的影响, 从图 1 和表 1 的数据可见, 许多不致癌或弱致癌的芳胺, 其氨基的对位皆不存在取代基(或并合环)(图 5 上列), 而氨基的对位有取代基(或并合环)的类似化合物(图 5 下列), 则其致癌活性大大增强, 这方面的例子很多, 例如:

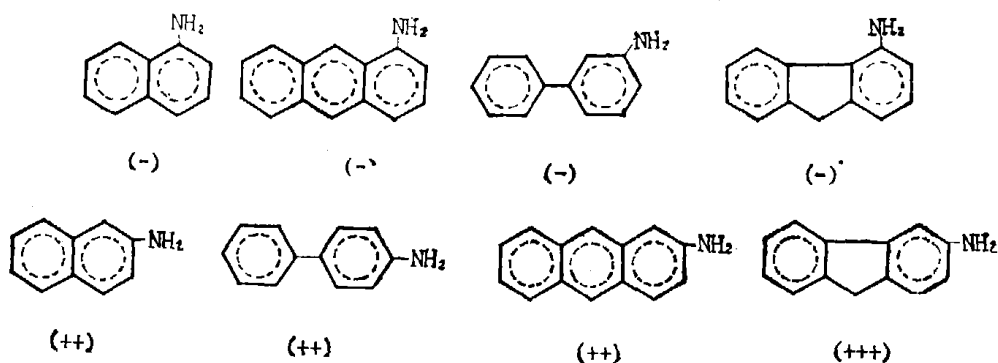


图 5 氨基对位未取代和取代芳胺的不同致癌活性

实验证明: 对位未取代的芳胺受氧化剂的作用很容易氧化并经氨缩对醌再水解成对醌。当其的对位为羟基或氨基时, 则其生成醌的速度将以更高的速率和收率生成。相反邻醌则难于生成。根据分子轨道计算, 其内能较对醌略高每克分子数千卡, 实际上邻醌在酸的催化下将重排成内能较小的对醌。因此, 氨基的对位无取代基占据时, 则有利于芳胺的降解脱毒。N-羟化物经醌的降解脱毒如图 6。因此, N-羟化物也有发生烷化以及经酚、醌等脱毒降解的两重性。

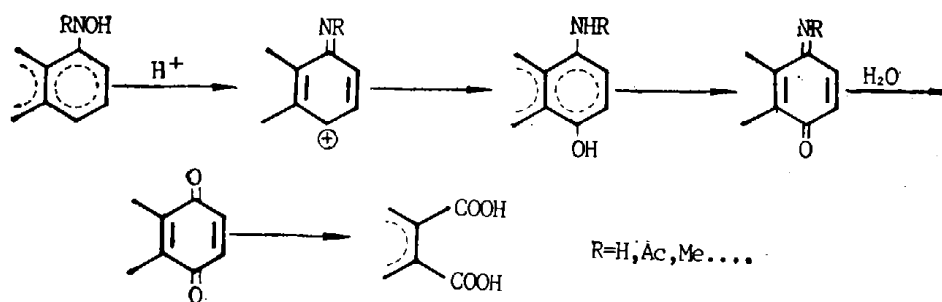


图 6 N-羟基芳胺引起分子的降解脱毒

联苯胺在适当条件下,可氧化生成联苯-4,4'-醌二亚胺的衍生物,并可进一步水解成醌。4-氨基联苯氧化成醌的趋势减弱,其致癌潜力较联苯胺有所增强。2-氨基蒽可看成是4-氨基联苯在其2,2'-位置以五元环并合的化合物。X光衍射证明:蒽是平面性的分子^[15]。因此,平面性的2-氨基蒽难于按联苯胺的途径脱毒,而具有强的致癌作用。

Walpole 指出^[16]:在4-氨基联苯系中,3-位甲基取代的化合物其致癌活性反而较母体为强,如3-甲,3,2'-二甲和3,3'-二甲-4-氨基联苯的致癌潜力皆强于4-氨基联苯。这一长期未能阐明的4-氨基联苯系3-位取代基的增效作用,显然与其对脱毒的影响有关,4-氨基联苯转化成联苯醌型结构产物时,因共轭而要求亚氨基与苯环共平面,甲基的空间阻碍将妨碍平面性中间产物形成,从而会妨碍其脱毒。

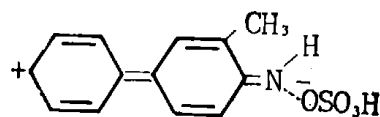


图 7 3-位甲基取代妨碍亚胺醌共平面的形成

四、芳胺的定量结构致癌活性关系

收集63个有可靠动物实验的芳胺作为计算的起始数据集,其中包含苯系、联苯系、蒽系、二苯并五元杂环系、二苯乙烯系、苯系 PAH 和非交变 PAH 的芳胺。按其致癌能力分为不致癌(-)、弱致癌(+),致癌(++)和强致癌(+++)四级。令亚氮阳离子的离域能为 ΔE_1 , 除苯本身的衍生物外,取代氨基异环上因环氧化物歧化产生的阳离子的可能最大离域能为 ΔE_2 , 以 $\Delta E_1 \cdot \Delta E_2^3$ 近似地表征相应芳胺代谢产物的横向交联能力。分子的脱毒趋势以脱毒区指数除以 ΔE_2 近似,即假定脱毒趋向为横向交联的趋势所抑制。氨基作为极性基,其经胞膜的通透性及进一步向胞核的传输,随环数 R 的增加,以二次函数的抛物线形变化近似。因上述芳胺中,两活性中心的距离皆不大,距离因素予以忽略。根据上述超热力学假定,经拟合得计算芳胺的近似公式如下:

$$\log K = 1.687 \Delta E_1 \Delta E_2^3 - 0.223 \cdot n \cdot \Delta E_2^{-3} - 0.222(R - 2.3)^2.$$

当 $K < 10$, 为(-), $10 < K < 20$ 为(+), $20 < K < 50$ 为(++), 而 $K > 50$ 为(+++). 致癌标度是以有限的动物实验外推到一般,因此致癌潜力标度具有模糊集的性质。若计算值与实验值之间无(+)与(-)的偏差,而最大只有一级偏差时,则认为计算与实验一致。结果计算与实验的一致达 98%。从而将结构致癌性能关系约化为可以借化学参数计算的近似定量关系(见表1)。

由于 HMO 是忽略电子相关能的独立电子近似,电子相关能的变化则可以引起重要的偏

表 1 芳胺的定量结构致癌活性关系计算结果*

编号	化 合 物	R	n	ΔE_1	ΔE_2	实 验	计 算
1	苯胺	1	2	1.745	0.867	(-)	7.2(-)
2	2,4'-二氨基苯甲烷	2	1	1.836	0.745	(-)	5.2(-)
3	4,4'-二氨基苯甲烷	2	0	1.836	0.744	(+)	19.0(+)
4	1,3-二氨基苯	1	4	1.867	0.826	(-)	0.6(-)
5	3-氨基联苯	2	2	1.893	0.815	(-)	7.6(-)
6	1-氨基苄	3	1	1.918	0.81	(+)	15.5(+)
7	4,4'-二氨基苯醚	2	0	1.964	0.725	(+)	17.4(+)
8	3,3'-4,4'-四氨基联苯	2	2	1.991	0.796	(-)	6.1(-)
9	3-氨基苄	3	0	1.997	0.821	(+++)	56.9(+++)
10	2-氨基联苯	2	1	2.023	0.746	(-)	7.2(-)
11	2-氨基菲	3	0	2.033	0.811	(+++)	52.5(+++)
12	2-氨基二苯并噻唑	3	0	2.062	0.796	(++)	44.2(++)
13	2-氨基吡啶	3	1	2.062	0.811	(+)	21.3(++)
14	4-氨基联苯	2	1	2.063	0.819	(++)	30.6(++)
15	4-氨基苄	3	2	2.064	0.836	(+)	14.5(+)
16	1,4-二氨基苯	1	4	2.068	0.718	(-)	0.0(-)
17	4-氨基二苯胺	2	4	2.068	0.866	(-)	7.4(-)
18	3-甲-4-氨基联苯	2	0	2.083	0.766	(++)	36.2(++)
19	4-溴-4'-氨基联苯	2	0	2.084	0.639	(-)	7.8(-)
20	2-甲-4'-氨基联苯	2	1	2.094	0.745	(-)	7.9(-)
21	2,5-二氨基甲苯	1	2	2.094	0.772	(-)	1.9(-)
22	4-氨基-2'-氟联苯	2	1	2.095	0.744	(-)	7.8(-)
23	4-氨基-4'-氟联苯	2	0	2.107	0.744	(++)	27.7(++)
24	2,3-二甲-4-氨基联苯	2	0	2.112	0.795	(+++)	58.9(+++)
25	2-萘胺	2	0	2.12	0.719	(++)	28.3(++)
26	2-氨基苄	3	0	2.122	0.835	(+++)	94.4(+++)
27	2,2'-环己并-4-氨基联苯	3	0	2.122	0.835	(+++)	94.4(+++)
28	2-氨基-9,9-二甲苄	3	0	2.122	0.665	(-)	8.7(-)
29	3-甲氧-4-氨基联苯	2	0	2.125	0.767	(++)	39.5(++)
30	3-羟-4-氨基联苯	2	1	2.125	0.767	(+)	12.6(+)
31	3-氨基吡啶	3	4	2.137	0.854	(-)	5.0(-)
32	2-氨基-7-氟苄	3	0	2.165	0.802	(+++)	59.6(+++)
33	2,4-二氨基联苯	2	2	2.172	0.745	(-)	2.6(-)
34	3,4-二氨基联苯	2	1	2.172	0.675	(-)	2.4(-)
35	3-氨基菲	3	0	2.174	0.838	(+++)	112.0(+++)
36	2,4'-二氨基联苯	2	2	2.188	0.745	(-)	2.6(-)
37	3-氨基蒽	4	0	2.209	0.894	(+)	104.9(+++)
38	4,4'-二氨基联苯	2	1.5	2.216	0.79	(+)	13.9(+)
39	1-氨基菲	3	2	2.218	0.837	(++)	21.1(++)
40	1-萘胺	2	2	2.24	0.719	(-)	1.5(-)
41	2-甲-4,4'-二氨基联苯	2	0.5	2.243	0.745	(+)	18.8(+)
42	9-氨基菲	3	2	2.255	0.81	(+)	11.8(+)
43	2-氨基蒽	4	0	2.342	0.793	(+)	21.3(++)
44	1-氨基-4,5-环戊并萘	3	0	2.36	0.686	(+)	15.0(+)
45	6-氨基蒽	4	2	2.384	0.841	(+)	10.0(+)

续表 1

编号	化 合 物	R	n	ΔE_1	ΔE_2	实 验	计 算
46	1,5-萘二胺	2	4	2.397	0.686	(-)	0.0(-)
47	3,4-二甲苯胺	1	0	2.425	0.772	(+)	32.1(++)
48	5-氨基苯并[a]蒽	4	3	2.451	0.725	(-)	0.1(-)
49	11-氨基苯并[a]蒽	4	2	2.456	0.727	(-)	0.6(-)
50	反-4,4'-二氨基二苯乙烯	2	1.5	2.456	0.801	(++)	28.7(++)
51	顺-4,4'-二氨基二苯乙烯	2	3	2.456	0.801	(-)	6.4(-)
52	4-氨基蒽	4	2	2.464	0.793	(-)	3.4(-)
53	8-氨基苯并[a]蒽	4	2	2.468	0.86	(++)	20.2(++)
54	2-氨基蒽	3	1	2.469	0.744	(++)	11.6(+)
55	1-氨基蒽	4	2	2.511	0.868	(+)	27.9(++)
56	1-氨基蒽	3	2	2.53	0.775	(-)	8.3(-)
57	7-氨基苯并[a]蒽	4	2	2.556	0.893	(++)	63.4(+++)
58	9-氨基蒽	3	2	2.622	0.746	(-)	4.5(-)
59	2-氨基丁省	4	2	2.684	0.784	(-)	4.1(-)
60	2,4-二氨基甲苯	1	1	2.688	0.771	(+)	16.4(+)
61	1-氨基丁省	4	3	2.718	0.784	(-)	1.5(-)
62	5-氨基丁省	4	2	2.81	0.827	(+)	17.8(+)
63	2-氨基-二苯并噻吩	3	3	2.875	0.825	(++)	26.4(++)

* R 为环数, n 为脱毒区数。

差,对氨基 PAH,皆取与芳核相连的次甲基离子的离域能,对于角环则这隐含与芳烃类似,是经二氢二醇再环氧化。但这只是一种近似,缔合性氨基的存在,有利于代谢物的传输,其烷化不必一定经二氢二醇。苯、联苯及蒽等,其二氢二醇是不稳定的,其烷化作用可能是经简单的环氧化物进行。此外, $C_6H_5CH_2^+$ 和 $C_6H_5CH=CHCH_2^+$ 的计算离域能相应为 0.721 和 0.960,而实际两者的稳定性类似。因此,单环、集合环系及其等电子系的计算 ΔE_2 ,则乘以 0.751 (0.721/0.960) 的权因子。而 ΔE_2 必须考虑另一氮原子时,则 ΔE_2 是在乘以权因子 0.413 ($C_6H_5CH_2^+$ 的 ΔE 0.721 除以 $C_6H_5N^+H$ 的 ΔE 1.745)。并将各种结构的 ΔE_2 调节至可相互比较的数量级。

对两活泼中心之一的空间阻碍,皆影响其双官能烷化能力。可能与氨基的体积与甲基接近相关,采用文献[17]的定义和方法,并参照 Taft 邻位位阻对 ΔE_2 校正而近似。但问题还可进一步简化,即氨基所产生的类甲基位阻,以及在第二活泼中心上 CH_3- , Cl 和 CH_3O- 等的阻碍,可在 ΔE_2 上减去 0.120,而溴、碘等较大基团则减去 0.170 即可满意地近似。

分子在代谢中的脱毒趋势,按过去的方法^[1] 以脱毒区指数 n 近似地度量。根据各特征区氧化降解的趋势,L 区及等价 K 区时 $n=1$ 。苯环或并合苯环上的氨基、其对位有取代基或并合环时 $n=0$,无则 $n=2$;有氨基或羟基时 $n=4$ 。在 4-氨基联苯系或二苯乙烯系中,4'-位取代基为 H 时 $n=1$,为 NH_2 或 OH 时 $n=1.5$ 。蒽和菲的 2-位或 3-位氨基,联醌结构将因五环张力引起多个苯环的破坏而难于形成,其 $n=0$ 。 OH 基,取氨基的同等 n 值。分子中的反式碳碳双键 $n=0$,而顺式则 $n=1.5$ 。硫原子因代谢成砷的趋势, $n=3$ 。氨基因空间阻碍影响其成醌时和脱毒区受空间阻碍时,其 n 值减去 1。

上述简单然而合理的假定得到了计算与实验的优异一致,证明了双区理论的特定双官能

烷化观点对致癌过程的重要性。以上的简单 HMO 计算工作量仍然是很大的,因此所有计算是采用的一揽子分子轨道法^[18]。

五、结 束 语

双区理论在主要的致癌化合物类型上已成功地将结构致癌活性关系约化成化学活性关系,实现了前人的理论所未能达到的目标。我们实验室的经验证明:化合物结构发生大幅度变化的非经验结构生理活性关系的研究,有可能揭示有关生理现象的机理。双区理论首先指出的一切致癌作用(化学、病毒和物理致癌作用)的最终靶的,应在转录酶基因上的论点,令人欣慰的是已获实验证明并被科学界所承认^[8,19]。从其在定量结构致癌活性上的显著成功,使我们意识到双区理论关于互补碱对的横向交联、互补移码变异以及从转录基因向逆转录基因的转化等关于一切致癌作用机理的论点,也将为实验所证实和不断地丰富。

参 考 文 献

- [1] 戴乾圆,中国科学,1979,10: 964—977.
- [2] Dai Qianhuan, *Proceedings of International Workshop Symposium on Basic Mechanisms of Chemical Carcinogenesis*, Shanghai, 1982, 41—49.
- [3] Dai Qianhuan, *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Mechanisms, Methods and Metabolism* (Eds. Cooke M. and Dennis, S.), Battelle Press, Columbus, Ohio, 1984, 1045—1073.
- [4] 戴乾圆、钟儒刚,中国科学B辑,1988,10: 1027—1036.
- [5] Huebner, R. J. & Todaro, G. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 64(1969), 1087.
- [6] cf. Hathway, D. E., *Mechanisms of Chemical Carcinogenesis*, Chapter 7, Butterworths, 1986, 113—123.
- [7] Temin, H. M., *Science*, 192(1976), 1075—1080.
- [8] (a) Bohmann, D. et al., *Science(USA)*, 238(1987), 1386—1392; (b) Varmus, H. E., *ibid.*, 1337—1339; (c) Bishop, J. M., *Science*, 235(1987), 305.
- [9] (a) Arcos, J. C., & Argus, M. F., *Chemical Induction of Cancer*, Vol. IIB, Academic, 1974; (b) Garner, R. C. & Martin, C. N., *Chemical Carcinogens* (Ed. Searle, C. N.), ACS, Washington, D. C., 1984, 175—276.
- [10] Gorrod, J. W. & Manson, D., *Xenobiotica*, 16(1986), 10/11: 933—955.
- [11] Leuenberger, S. G., *Brun's Bect. Klin. Chir.*, 80(1912), 208.
- [12] Miller, J. A. & Miller, E. C., *Origins of Human Cancer*, Book B, 1977, 605—627.
- [13] 戴乾圆、张长印,科学通报,27(1982),11: 696.
- [14] Ziegler, D. M., Mckee, E. M. & Poulsen, L. L., *Drug Metab. Disp.*, 1(1973), 314.
- [15] Burns, D. M. & Iball, J., *Nature*, 173(1954), 653.
- [16] Walpole, A. L., Williams, M. H. C. & Robert, D. C., *Brit. J. Ind. Med.*, 9(1953), 255.
- [17] 戴乾圆、张敦信,中国科学B辑,1983,8: 716.
- [18] 戴乾圆,环境科学丛刊,1981,5/6: 11;戴乾圆、石冰志,中国科学B辑,1986,4: 350—358.
- [19] cf. Baum, R., *News about Nobel Prizes in Medicine*, C & EN, 1989, 10: 6—7.