

## 分子軌道 函數理論에 의한 니코틴 特異 니트로사민과 核酸鹽基와의 可能的 相互作用에 관한 研究(I)

니트로소닐니코틴과 그 代謝中間物質

李 鍾 達

嶺南大學校 藥學大學

(Received May 25, 1982)

Jong Dal Rhee

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 632, Korea

### A Study on Possible Interaction between Nicotine-specific Nitrosamines and Nucleic Acid Bases by Molecular Orbital Theory (I)

#### N'-nitrosonornicotine and Its Metabolic Intermediates

**Abstract**—The intermediate of N'-nitrosonornicotine may bind to the guanine moiety of a G-C base pair. The hydrogen bond of the base pair may be broken and a new hydrogen bond can form between the intermediate and the guanine. It results in the "short" type of DNA repair.

흡연은 주로 폐암을 일으키나<sup>1)</sup> 구강암, 식도암, 췌장암, 방광암도 일으킨다. 그리고 씹는 담배도 구강암, 식도암을 유발할 수 있다고 한다.<sup>2,3)</sup> 담배 연기속에는 암 initiator인 다핵 방향족 탄화수소, 암 promoter인 catechol 및 cocarcinogen이 들어 있는 것이 널리 알려져 있다.<sup>4)</sup> 담배 특이 니트로사민도 역시 담배에 관련된 암에 주요한 인자(因子)일 수 있고 담배연기와 직접 접촉하지 않는 기관에 암을 유발할 수 있다. 예를 들면 니트로사민은 시험동물에서 폐암, 구강암은 물론 식도암, 췌장암, 그리고 방광암을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다.<sup>5-7)</sup>

담배 또는 담배연기에 공통으로 들어 있는 담배 알카로이드는 약 10종이 있다. 이들 알칼로이드 중 담배에서는 니코틴의 함유량이 1~2%로 가장 많이 함유되어 있다. 니코틴과 노르니코틴은 니트로화 되어 N'-nitrosonornicotine (NNN), 4-(N-methyl-nitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), 또는 4-(N-methyl-N-nitroamino)-4-(3-pyridyl) butanol(NNA) 또는 N-nitropyrrolidine (NPy)으로 될 수 있다.<sup>8)</sup>

이들 중에서 NNN함량이 가장 많으며 이것은 mouse에서 lung adenomas를, rat Fisher에서 식도암을 유발하는 것으로 알려져 있다.

일반적으로 지방족 또는 방향족 니트로사민의 발암성은 니트로사민의 질소의  $\alpha$ 탄소에 수소가 있나 없나에 좌우된다고 한다.<sup>9)</sup> 또 니트로사민은 그 자체가 발암제가 아니고 생체내에서 이들 대

사중간물질이 생체 고분자 물질 예를 들면 단백질, 핵산(RNA, DNA)와 결합하여 암을 유발하는 것으로 믿고 있다.

그래서 저자는 니코틴, NNN 및 그 대사중간물질이 DNA염기와 상호작용이 가능할 것으로 생각하고 이들 물질에 frontier electron density를 얻어 DNA염기와의 가능한 반응위치를 찾아 보았다. 이 결과와 실험적으로 밝혀져 있는 사실을 비교 고찰하여 비교적 흥미로운 사실을 얻었다.

### 實驗方法

計算方法—니코틴, NNN 및 그 대사중간물질은 CNDO법으로, DNA의 염기 및 염기쌍은 단순 Hückel의 MO법으로 계산하였다. 계산에 필요한 각 분자의 결합각과 결합거리는 문헌치를 이용하였다.<sup>10)</sup>

친전자반응 및 친핵반응의 지표로 이용한 parameter는 각각 frontier electron density  $f_r^{(E)}=2(C_r^{HO})^2$  및  $f_r^{(N)}=2(C_r^{LU})^2$ 이다. 여기서  $f_r^{(N)}$ 은 어떤 분자에서 전하를 받아 들일 수 있는 능력의 척도이고  $f_r^{(E)}$ 는 전하를 다른 분자에 줄 수 있는 능력의 척도라 할 수 있다.

### 實驗結果 및 考察

니코틴, NNN 및 그 대사중간물질의 frontier electron density  $f_r^{(E)}, f_r^{(N)}$  중 값이 큰 것을 Table I에 표시하였고 Fig. 1에 NNN 및 그 대사중간물질의 구조 및  $f_r^{(N)}$  값이 큰 위치를 표시하였다. Table II에는 핵산 염기 및 염기쌍에 대한 frontier electron density를 모아 두었다. 이 표에서 각 원자의 위치, 유리 염기, 염기쌍, nucleoside에 있는 당 대신에  $-CH_3$ 기를 넣어 계산하였다. 이들의  $f_r^{(E)}$  값이 큰 위치만을 표시한 것이 Fig. 2에 있다.

Fig. 3 a에는 염기, 염기쌍에 대한 최고점 유체도(HOMO, highest occupied molecular orbital)와 최저공체도(LUMO, lowest unoccupied molecular orbital)를 표시하였다. 이 Fig. 3 a에서 에너지 준위를 보면 DNA염기 단독으로는 구아닌이 전자주개(electron donor)의

Table I—Significant frontier electron densities for nicotine, NNN, and its intermediates.

a	Nicotine		NNN	
	$f_r^{(E)}$	$f_r^{(N)}$	$f_r^{(E)}$	$f_r^{(N)}$
1		0.6540	0.0224	0.6381
3			0.0231	0.1919
4	0.0367	0.6758	0.0232	0.6809
6	0.0027	0.2234	0.0023	0.2426
8	0.6206		0.4698	
13			0.4768	

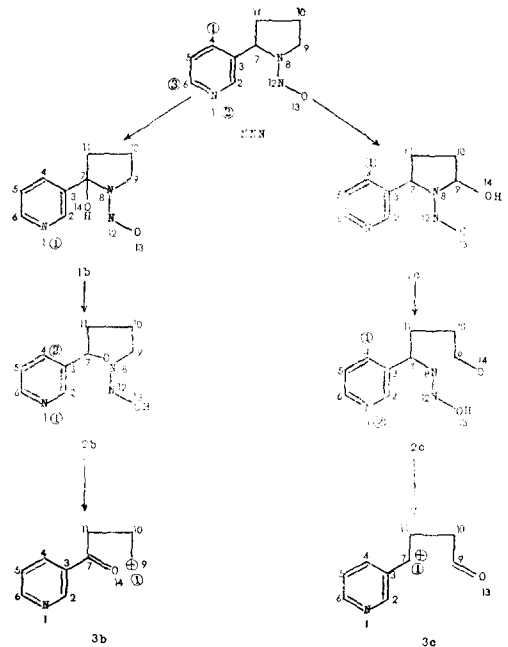


Fig. 1—The structures and positions of significant  $f_r^{(N)}$  in N'-nitrosornicotine (NNN) and its metabolic intermediates. (from ref. 8)

I-2

a	1b <sup>b</sup>		2b		3b	
	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>
1		0.6368		0.5278	0.0748	
4			0.1185	0.4875	0.0694	
6		0.0248				
8	0.3937		0.0353	0.1706		
13	0.4318					
14	0.0445				0.901	

I-3

a	1c <sup>c</sup>		2c		3c	
	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>	f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>
1	0.0192	0.6369		0.6175	0.0796	
4	0.0537	0.6810	0.0240	0.6675	0.0531	0.1778
6	0.0931	0.2446			0.324	0.1935
7					0.0651	1.2516
8	0.7369		0.6128	0.0084		
9			0.0231			
13	0.6871					
14					0.8196	

a: The number indicates the position of atom in the figure 1.  
 b: and c: see in the figure 1.

**Table II**-Frontier electron densities of nucleic acid bases and base pairs.

Adenine

	f <sub>r</sub> <sup>(E)</sup>				f <sub>r</sub> <sup>(N)</sup>			
	A-H <sup>a</sup>	A-CH <sub>3</sub> <sup>b</sup>	Ap-H <sup>c</sup>	Ap-CH <sub>3</sub> <sup>d</sup>	A-H	A-CH <sub>3</sub>	Ap-H	Ap-CH <sub>3</sub>
1	0.1349	0.1727	0.0119	0.0030	0.0035	0.0114	0.0022	0.0110
2	0.1276	0.1190	0.0058	0.0007	0.3685	0.3340	0.3559	0.3044
3	0.2924	0.3207	0.0184	0.0036	0.3408	0.3758	0.3229	0.3527
4	0.0967	0.1050	0.0070	0.0014	0.0173	0.0418	0.0163	0.0450
5	0.1877	0.0678	0.0149	0.0024	0.0551	0.0444	0.0493	0.0362
6	0.1510	0.1299	0.0018	0.0000	0.4642	0.5098	0.4541	0.5131
7	0.2393	0.3255	0.0070	0.0007	0.1205	0.1056	0.1239	0.1125
8	0.2257	0.0793	0.0139	0.0019	0.4538	0.3912	0.4498	0.3867
9	0.0825	0.2472	0.0023	0.0004	0.0685	0.0615	0.0679	0.0574
10		0.1012		0.0001		0.0074		0.0069
11	0.4622	0.3319	0.0579	0.0132	0.1081	0.1173	0.1273	0.1422

## Thymine

	$f_r^{(E)}$				$f_r^{(N)}$			
	T-H	T-CH <sub>3</sub>	Tp-H	Tp-CH <sub>3</sub>	T-H	T-CH <sub>3</sub>	Ap-H	Tp-CH <sub>3</sub>
1	0.4499	0.5933	0.4184	0.5834	0.1347	0.1641	0.0027	0.0035
2	0.0162	0.0288	0.0146	0.0287	0.0124	0.0233	0.0000	0.0002
3	0.0015	0.0002	0.0010	0.0007	0.0737	0.0792	0.0020	0.0018
4	0.0242	0.0331	0.0259	0.0394	0.2494	0.2382	0.0075	0.0079
5	0.6650	0.5890	0.6199	0.5817	0.3971	0.3708	0.0029	0.0024
6	0.3803	0.1513	0.3477	0.1423	0.8779	0.8602	0.0131	0.0133
7		0.1813		0.1800		0.0176		0.0004
8	0.0885	0.1132	0.0807	0.1145	0.0100	0.0184	0.0000	0.0002
9	0.1322	0.1299	0.1237	0.1225	0.2015	0.1883	0.0020	0.0020
10	0.2423	0.1800	0.2272	0.1795	0.0434	0.0399	0.0004	0.0003

## Guanine

	$F_r^{(E)}$				$F_r^{(N)}$			
	G-H	G-CH <sub>3</sub>	Gp-H	Gp-CH <sub>3</sub>	G-H	G-CH <sub>3</sub>	Gp-H	Gp-CH <sub>3</sub>
1	0.0460	0.0550	0.0337	0.0407	0.1335	0.1498	0.0003	0.0005
2	0.1096	0.1181	0.0781	0.0813	0.0979	0.7827	0.0033	0.0045
3	0.4647	0.4881	0.4858	0.4977	0.0476	0.0739	0.0000	0.0000
4	0.1555	0.1790	0.1279	0.1469	0.2691	0.2305	0.0038	0.0041
5	0.3617	0.2723	0.3441	0.2527	0.1067	0.1277	0.0006	0.0010
6	0.0276	0.0248	0.0330	0.0278	0.0000	0.0002	0.0058	0.0063
7	0.1410	0.1869	0.1372	0.1754	0.0320	0.0060	0.0011	0.0016
8	0.3210	0.2230	0.2972	0.1976	0.3433	0.2232	0.0002	0.0004
9	0.0501	0.1094	0.0562	0.1132	0.2352	0.2359	0.0006	0.0008
10		0.0372		0.0374		0.0247		0.0001
11	0.1382	0.1184	0.1220	0.1026	0.0000	0.0001	0.0012	0.0015
12	0.1849	0.1873	0.2523	0.2495	0.1345	0.1453	0.0014	0.0013

## Cytosine

	$f_r^{(E)}$				$f_r^{(N)}$			
	C-H	C-CH <sub>3</sub>	Cp-H	Cp-CH <sub>3</sub>	C-H	C-CH <sub>3</sub>	Cp-H	Cp-CH <sub>3</sub>
1	0.3458	0.5908	0.0068	0.0219	0.2376	0.2987	0.2269	0.2837
2	0.0291	0.0385	0.0012	0.0002	0.0042	0.0006	0.0012	0.0000
3	0.4900	0.1692	0.0008	0.0001	0.2675	0.2698	0.2222	0.2271
4	0.0012	0.0338	0.0000	0.0005	0.4662	0.4489	0.4743	0.4556
5	0.6211	0.5649	0.0069	0.0186	0.0798	0.0623	0.0794	0.0625
6	0.1893	0.0194	0.0009	0.0002	0.8233	0.7750	0.8263	0.7775
7		0.2397		0.0072		0.0370		0.0355
8	0.3179	0.2595	0.0008	0.0040	0.0042	0.0006	0.0012	0.0000
9	0.0057	0.0843	0.0156	0.0246	0.1172	0.1071	0.1502	0.1359

a: free base, b: substituted base by -CH<sub>3</sub> radical instead of pentose, c: paired base, d: paired and substituted base by -CH<sub>3</sub> radical.

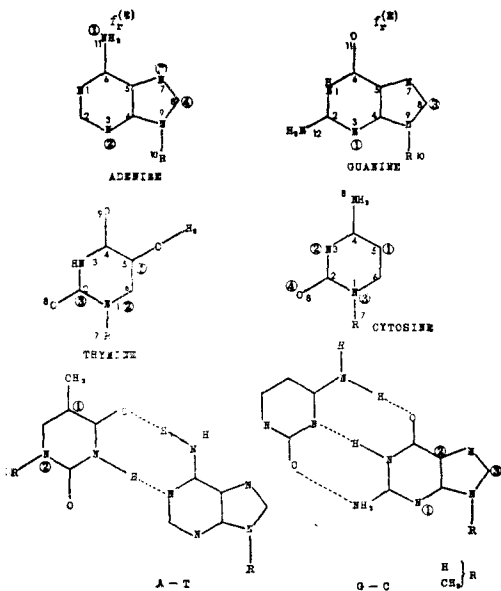


Fig. 2-The positions of significant frontier electron densities in nucleic acid bases.

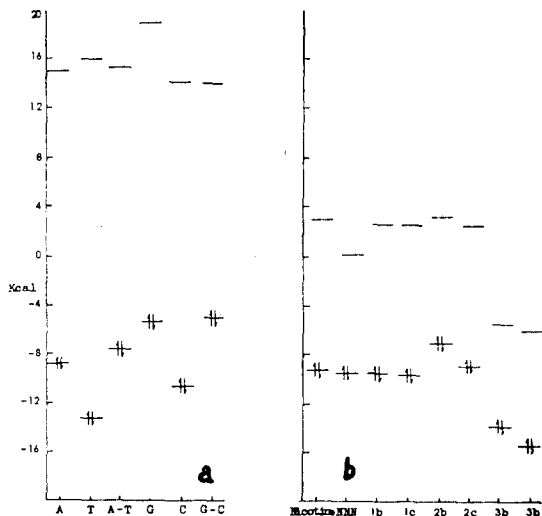


Fig. 3-a) The energy levels of HOMOs and LUMOs of nucleic acid base and base pairs.

b) The energy levels of HOMOs and LUMOs of nicotine, N'-nitrosornicotine and its metabolic intermediates b and c. See in Fig. 1.

성질이 가장 크고 티민이 전자받게 (electron acceptor)의 성질이 가장 크다. 구아닌의 이 같은 성질은 알킬화제와 쉽게 반응하여 알킬화된다는 사실에서 알 수 있다. 다른 염기가 일반적인 실험 조건하에서, 특히 티민에서는, 알킬화가 잘 되지 않는다는 사실로 미루어 보아 알 수 있다.<sup>11)</sup>

한편 염기쌍에서는 G-C염기쌍이 A-T염기쌍보다 전자주게의 성질이 크다. 일반적인 실험조건 하에서 DNA에 Alkylating agent가 알킬화할 때 G-C 염기쌍에 더 쉽게 결합되는 것으로 보아 뒷 사실을 뒷받침할 수 있을 것으로 생각한다.

G-C염기쌍의 HOMO의 성질은 주로 구아닌 쪽에서, A-T염기쌍의 HOMO의 성질은 주로 아데닌쪽에서 나왔음을 이 그림에서 알 수 있다.

Fig. 3의 b에서 보면 니코틴, NNN 및 그 대사 중간물질의 LUMO의 에너지준위를 볼 때 3b, 3c의 LUMO의 에너지준위가 다른 물질 보다 낮음을 알 수 있다. 이것은 3b, 3c 대사중간물질이 다른 물질보다 전자를 받을 능력이 크다는 것을 뜻한다. 이 사실은 니코틴, NNN자체는 발암성 물질이 아니고 그 대사물질이 궁극적인 발암제 (ultimate carcinogen)란 사실에 부합한다.<sup>9)</sup>

Fig. 1에서 NNN에서  $f_r^{(E)}$  값이 큰 위치가 퍼리딘 핵쪽에 있지만 이들이 대사됨에 따라 점차적으로 퍼리딘 핵쪽에서는 없어지고 결국 3b, 3c의 각각 C<sub>13</sub>, C<sub>7</sub> 원자으로 이동함을 알 수 있다. 3b, 3c의 각각 O<sub>14</sub>, O<sub>13</sub> 원자의  $f_r^{(N)}$  값(표 1참조)이 크게 됨을 주목할 만한 점이다. 이 사실은 이들 산소가 수소결합할 능력이 있음을 의미한다.

아데닌에서는  $f_r^{(E)}$  값이 N<sub>11</sub>, N<sub>3</sub>, N<sub>7</sub>, C<sub>8</sub> 원자 순으로 큰 값을 가진다. 티민에서는  $f_r^{(E)}$  값이 C<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, C<sub>6</sub> 원자 순으로 큰 값을 가진다. 그러나 A-T염기쌍에서는 아데닌쪽은  $f_r^{(E)}$  값이 모두 감소하고 티민 쪽에서만  $f_r^{(E)}$  값이 C<sub>5</sub>, N<sub>1</sub>, C<sub>6</sub> 원자 차례로 큰 값을 가진다. 구아닌에서는  $f_r^{(E)}$  값이 C<sub>8</sub>,

C<sub>5</sub>, N 원자 순으로, 시토신에서는 N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, C<sub>5</sub> 순으로 증가하나 G-C 염기쌍에서는 시토신쪽에서는 f<sub>r</sub><sup>(E)</sup> 값이 거의 없어지고 구아닌쪽에서만 그대로 남아 있음을 알 수 있다.

Pullman<sup>15)</sup>은 구아닌의 N<sub>7</sub>, 산소원자가 있는 부근에 분자 정전기 포텐셜이 가장 최소로 되므로 protonation이 이들 위치에서 가장 잘 일어날 것으로 예견했다. 이것은 본 논문에서 계산한 것과 다소 차이가 있다. 그러나 Pullman이 계산한 것은 유리 구아닌 자체에 대한 것이지 염기쌍의 경우가 아니므로 저자는 다음과 같은 결론을 맺을 수 있었다.

NNN의 대사중간물질 3b, 3c의 각각 C<sub>14</sub>, C<sub>7</sub>원자가 G-C염기쌍의 구아닌 쪽 N<sub>7</sub>, C<sub>8</sub>, 산소 원자에 알킬화가 가능하고 그러므로 G-C의 수소결합이 깨어지고 3b, 3c에 있는 산소 원자가 구아닌과 수소결합할 수 있을 것이다. 이 결과는 Reagan<sup>16)</sup>이 주장하는 DNA복제의 "Short"형이 될 것으로 생각한다.

### 結 論

N'-니트로소놀니코틴의 대사중간물질이 구아닌-시토신 염기쌍의 구아닌 쪽에 결합할 수 있다 구아닌-시토신 염기쌍의 수소결합이 깨어지고 이 중간대사물질이 구아닌과 수소결합할 가능성이 있다. 이 것은 DNA복제의 "short"형이 될 것이다.

본 연구는 문교부 연구비 지원으로 이루어진 것이다. 인하대학교 화학과 이 익춘 박사님과 영남대학교 화학과 박 병각 박사님의 도움에 감사하는 바이다.

### 文 獻

1. E.L. Wynder, and S.D. Stellman, *Cancer Res.*, **37**, 4608 (1977).
2. E.L. Wynder, I.J. Bross, and R.M. Feldman, *Cancer*, **10**, 1300 (1957).
3. G.E. Moore, L.L. Bissinger, and E.C. Proehl, *J. Amer. Geriatr. Soc.*, **1**, 497 (1953).
4. E.L. Whnder, and D. Hoffman, *Tobacco and Tobacco Smoke*, Academic Press, New York (1967).
5. P.N. Magee, R. Montesano, and R. Preussmann, *ACS Monoger*, No. **173**, 491 (1976).
6. P. Pour, J. Althoff, F. Kruger, and D. Schmahl, and U. Mohr, *Cancer Lett.*, **1**, 3 (1975).
7. P. Pour, J. Althoff, and D. Nagel, *Cancer Lett.*, **3**, 109 (1977).
8. S.S. Hecht, C-H.B. Chen, and D. Hoffmann, *Accounts Chem. Res.*, **12**, 92 (1979).
9. J.A. Miller, and E.C. Miller, *Origin of Human Cancer*, Cold Spring Harbor Labory P. (1977).
10. L.E. Sutton, *Table of Interatomic Distances and Configuration in Molecules and Ions*, The Chemical Soc., London (1958).
11. J.J. Christensen, J.H. Rytting, and R.M. Izatt, *Biochemistry*, **9**, 4907 (1970), and B.C. Pal *Ibid*, **1**, 558 (1962).
12. P.D. Lawley, *Prog. Nucl. Acid Res.*, **5**, 89 (1966).
13. P. Brooks, and P.D. Lawley, *J. Chem. Soc.*, 1348 (1962).
14. Idem, *Biochim. Acta*, **26**, 450 (1957).
15. A. Pullman, *The Jerusalem Symposia on Quatum Chatum Chemistry and Biochemistry*, Vol. **4**, P. **1** (1974).
16. J.D. Reagan, and R.B. Setlow, *Cancer Res.*, **34**, 3318 (1974).