

## Benzo(a)pyrene 과 Cytochrome P-450의 상호작용에 대한 이론적 연구

대구보건전문대학 임상병리과

도 성 탁

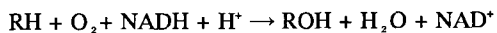
**국문초록:** 요약 B(a)P와 cytochrome P-450의 heme부분은 구조가 평면이므로 겹침상호작용이 가능하다. 가능성이 큰 겹침상호작용모형을 결정하기 위해 이들 분자에 대해 MO계산을 행하였다. 이 경우 궤도함수 상호작용이 가장중요하므로, 프론티어궤도함수의 eigen vector값이 크며 상호 결합성을 보여야 한다. 이를 바탕으로 다섯가지 가능성이 있는 모형을 선택한 후 MN2와 MO방법을 실행하였다. 이중 B(a)P의 4, 5, 6번 위치와 heme group의  $\gamma$ 탄소와 III pyrrole환이 포개어지는 형태가 가장 안정하였다.

### 서 론

외부에서 체내로 들어온 발암성물질인 Benzo(a)pyrene(B(a)P)은 Cytochrome-450에 의해 산화되어지는것으로 알려져 있다. Cytochrome P-450이 지용성인 B(a)P에 산소를 부가하여 극성을 띠게 하며 친수성으로 만들어 뇨나 담즙중에 배출하는 것으로 알려져 있다<sup>1)</sup>.

Cytochrome P-450은 hemoglobin과 동일한 protoheme 단백질의 일종이고, heme부분은 Fig.1과 같이 porphrin 환의 중심에 Fe원자가 있으며, 여기에 4개의 질소원자가 배위해 있고 제 5, 제 6 리간드가 배위해 있는데 제 5 배위는 -S라는 것이 밝혀져 있다<sup>2)</sup>.

Cytochrome P-450은  $O_2$ 를 활성화해서 그중 1개의 산소를 기질에 부여하는 동시에 보조효소 NADH를 산화해서  $NAD^+$ 를 생성한다<sup>3)</sup>. 이와같이 두개의 반응을 동시에 행하므로 mixed fuction oxidase라고 부른다. 기질을 RH로 나타내면 반응식은 다음과 같다.



이때 산소원자 1개를 기질에 첨가하기 때문에

\*논문접수 1995년 10월 30일, 수정재접수 1995년 11월 25일.

\*별책요청 저자

일산소첨가효소라고 하는데  $O_2$ 를 이용해 기질에 2개의 산소원자를 첨가하는 효소는 이산소첨가 효소라고 불리운다<sup>4)</sup>.

Cytochrome P-450에 의한 기질의 산소첨가 과정의 첫단계는 1)하나의 복합물을 형성하기 위하여 기질과 ferric heme단백질의 상호작용 2)플라보단백질, NADH-Cytochrome P-450 reductase에 의해 전달된 전자에 의한 복합물의 환원 3) ferrous heme 단백질, 기질복합체와 산소의 결합 4) Cytochrome P-450, 기질, 산소 세성분으로 구성된 복합물의 환원 5)기질과 상호반응을 위한 산소의 활성화 6)ferric heme단백질의 재발생과 함께 생성물의 분리등으로 이해 할수 있다. 본 연구에서는 이들 과정중 첫 단계인 기질 즉 B(a)P와 ferric heme단백질의 상호작용을 분자궤도함수법과 분자역학방법을 이용하여 해석해 보고자 한다. 계산한 B(a)P와 Cytochrome p-450의 heme부분을 Fig.1에 나타내었다.

### 계산 및 모델설정

#### 계산

분자의 좌표계산은 분자역학(Molecular Mechanics, MN2) 방법<sup>5)</sup>으로 최적화하였으며, iron porphirin 환에서  $Fe^{3+}$ 와 cystein의 S의 거리는  $2.3 \text{ \AA}$ <sup>6)</sup>으로 고정후 최적화 하였다. 이 최적화된 분자 구조에 대해 반응성을 조사하기위해 분자궤도함

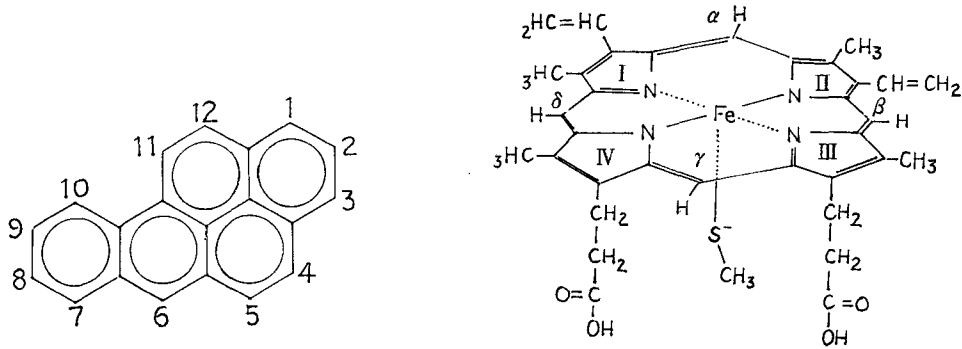
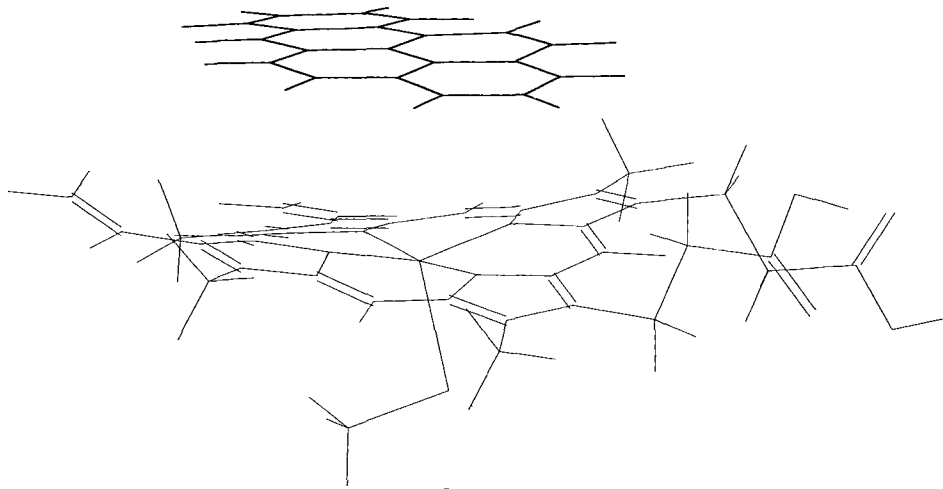


Fig. 1. The structure of beznzo(a)pyrene and the heme part of cytochrome P-450.



Model.

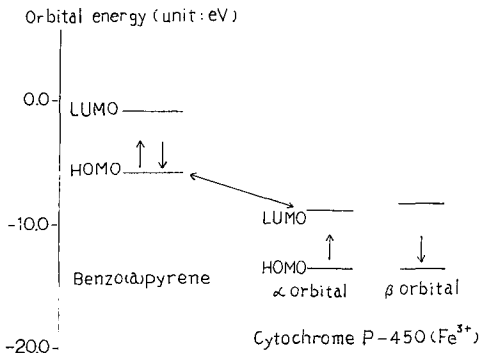


Fig. 2. Frontier orbital interaction between HOMO of B(a)P and LUMO of cytochrome P-450.

수법을 적용하였는데, 사용한 방법은 ZINDO/S 이다. 계산을 하는데 이용한 프로그램은 Hyperchem Release 4<sup>7)</sup> 이다.

#### 모델설정

B(a)P 발암화과정의 첫단계인 B(a)P와 Cytoch-

rome P-450의 상호작용은 두분자가 모두 평면형태이고 B(a)P가 비극성이므로 두분자가 포개어지는 형태 즉 stacked한 형태로 상호작용할 것으로 생각되어지고 있으므로<sup>9)</sup> 본 연구에서도 이 모델을 선택하였다. 선택한 모델을 그림으로 나타내면 아래와 같다.

#### 결과 및 고찰

B(a)P와 Cytochrome P-450의 상호작용을 알아보기 위해 먼저 두 물질의 HOMO, LUMO 에너지를 비교해 보았다. B(a)P의 HOMO 에너지 준위가 높고 Cytochrome P-450(Fe<sup>3+</sup>)의 LUMO 에너지 준위가 낮으므로 이 두께도가 상호 작용할 것으로 기대되어진다<sup>9)</sup>. 즉 B(a)P에서 Cytochrome P-450으로 전자가 이동하는 복합체를 이룰 것으로 예상된다. 따라서 Benzo(a)pyrene에서 frontier molecular orbital로 HOMO, Cytochrome P-450에서

는 LUMO를 취하였다. B(a)P의 HOMO eigen vector와 전자밀도, cytochrome P-450의 LUMO eigen vector와 전자밀도 값을 Fig.3과 Table 1에 나타내었다. 이들의 frontier orbital은 2P<sub>z</sub> orbital 임을 보여주어, 두분자가 포개어 질 가능성을 보여주었다.

B(a)P의 경우 HOMO전자밀도값이 큰 위치는 6,1,3,12,4,5 이며, cytochrome P-450의 경우 pyrrole 환과 pyrrole환을 연결하는 탄소원자에서 큰 값을 보여주고 있다. 이 두분자의 포개어지는 형태는 B(a)P의 HOMO eigen vector, cytochrome P-450의 LUMO eigen vector 값이 크고 궤도함수간에 결합성을 나타내어야 할 것 이다. 이를 고려하여 5가지의 포개어지는 형태를 조사하였다. 이들은 1) B(a)P의 11,12,1 탄소의 2P<sub>z</sub>궤도함수가 porphyrin 환의 20,24,15 탄소의 2P<sub>z</sub>궤도함수와 overlap하는 형태 2) B(a)P 6번 탄소의 2P<sub>z</sub>궤도함수가 porphyrin 환의 Fe 원자의 P<sub>z</sub>, d<sub>z</sub> 궤도함수 overlap하는 형태 3) B(a)P 6번 탄소의 2P<sub>z</sub> 궤도함수가 porphyrin 환의 21번 위치의 탄소원자의 2P<sub>z</sub> 궤도함수와 overlap하는 형태 4) B(a)P의 4,5번탄소(K-region)와 6번 탄소가 porphyrin 환의 8,21 위치와 18번위치에서 overlap하는 형태 5) B(a)P와 porphyrin환을 random 하게 포개형태이다. 위의 model을 설정한 후 MN2방법으로 최적화하여 그 구조를 찾아 Fig. 4에 나타내었다. 1),5)의 경우 구조설정 초기 상태와 대체적으로 유사하였으나, 2)의 경우 B(a)P의 6번위치가 porphyrin 환의 13번과 23번위치 중간에 overlap 되었고 3)의 경우 B(a)P의 K-region과 6번위치가 porphyrin 환의 20,24번위치와 17번위치와 overlap하는 형태로 바뀌었다. 이들중 3)형태가 에너지가 가장 안정한것으로 나타났다. B(a)P 평면과 cytochrome의 heme 평면간의 거리는 3.34 Å 이었다. 다음으로 이들의 모형에 대해 ZINDO/S방법을 실행하여 구한 총에너지와 B(a)P와 heme부분이 복합체를 이룰때의 상호작용 에너지를 Table 1.나타내었다. 총에너지는 3)형태에서 가장 안정하게 나타났으며, 상호작용에너지도 가장 큰음의 값을 나타내었다. 즉 B(a)P의 6번 위치에서 바로 Fe<sup>3+</sup>방향으로 전자의 전달이 일어나기보다 B(a)P의 HOMO전자밀도가 높은 부분과 porphyrin 환의 LUMO전자밀도가 높은 위치끼리 느슨한 복합체를 형성한 후 B(a)P에서 porphyrin 환으로 전자가 이동하는 것이 B(a)P산화의 첫 단계로 생각되어진다.

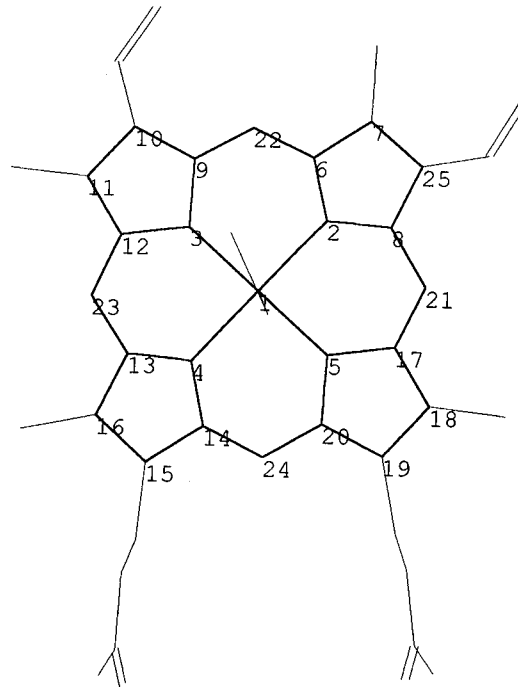


Table 1. LUMO eigen vector and electron density of heme group of cytochrome P-450

Atom	LUMO	
	Eigen vector	Electron density
1Fe	0.14431	0.04165
2N	0.14045	0.03945
3N	0.10155	0.02062
4N	0.09461	0.01790
5N	0.09330	0.01741
6C	0.00273	0.00001
7C	0.13610	0.03705
8C	-0.18046	0.06513
9C	-0.17307	0.05991
10C	0.14874	0.04425
11C	0.12418	0.03084
12C	-0.02190	0.00096
13C	-0.13508	0.03649
14C	-0.00901	0.00016
15C	0.13853	0.03838
16C	0.10875	0.02365
17C	-0.01232	0.00030
18C	0.20596	0.08484
19C	0.14345	0.04116
20C	-0.16408	0.05784
21C	-0.29180	0.17209
22C	-0.27768	0.15421
23C	-0.18335	0.06723
24C	-0.21611	0.09340

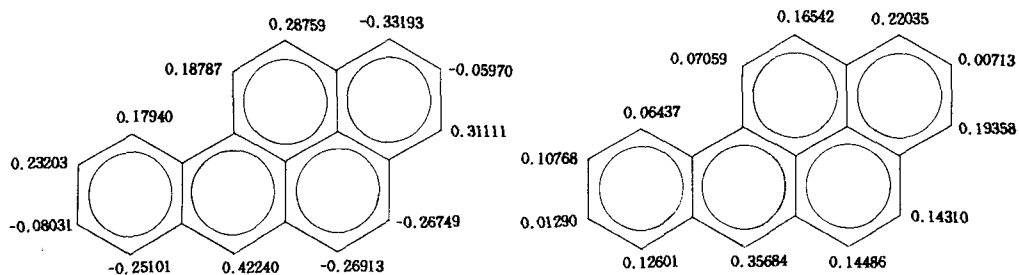


Fig. 3. HOMO eigen vector and electron density of B(a)P.

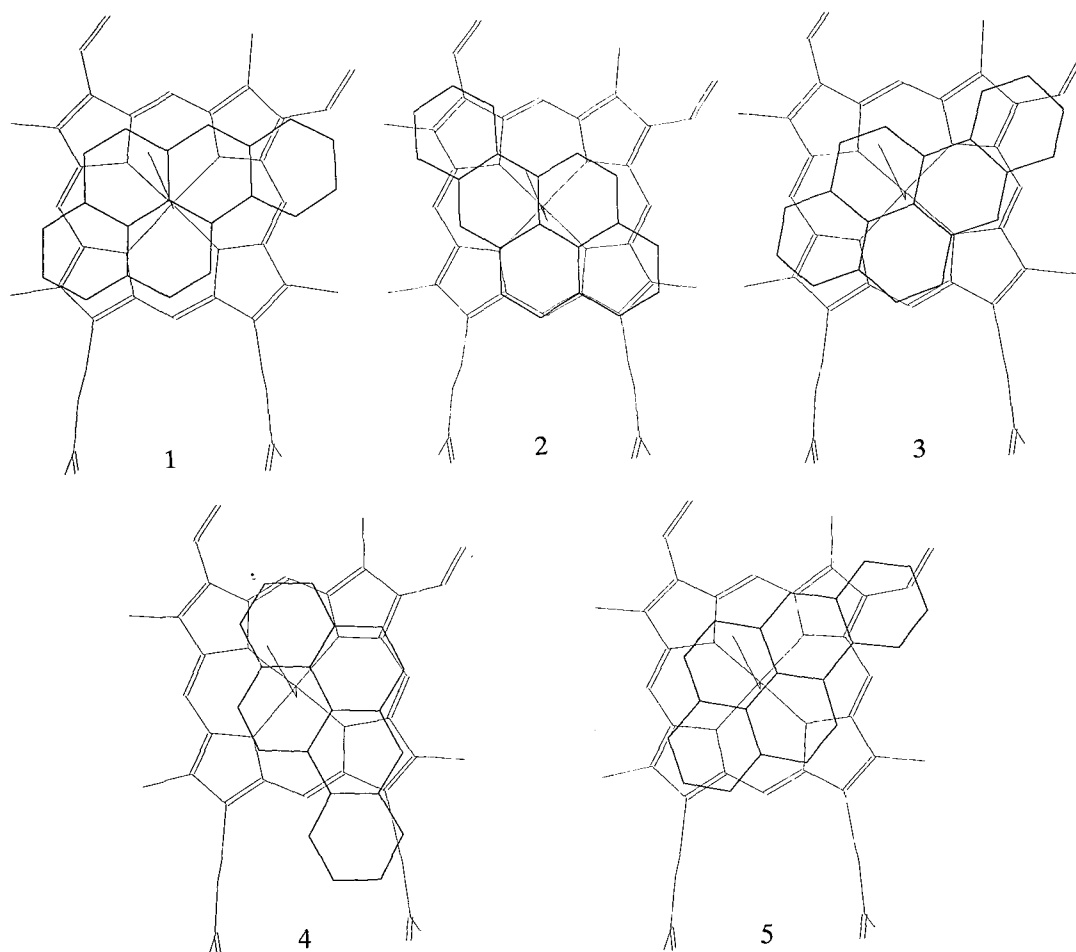


Fig. 4. The calculated stacking interaction models. B(a)P is indicated by bold lines.

Table 2. Total and interaction energy of cytochrome P-450- B(a)P complex

Model	Total energy(a.u)	Interaction energy(a.u)
1	-465.42792	-4.11464
2	-465.25843	-3.94515
3	-465.44556	-4.13228
4	-465.22361	-3.91033
5	-465.42727	-4.11399

## REFERENCES

1. Jerina DM and Daly JW (1974): Arene Oxides: A New Aspect of Drug Metabolism. *Science*, **185**: 573-582.
2. Cavalieri, E.L. and Eleanor, G.Rogan (1984): One-electron and two-electron oxidation in aro-

- matic hydrocarbon carcinogenesis. Free Radicals in *Biology*, **6**: 323-369.
3. Fujii-Kuriyama Y, Mizukami Y, Kawajiri K, Sogawa K and Muramatsu M (1982): Primary structure of cytochrome P-450 Coding nucleotide sequence of phenobarbital-inducible cytochrome P-450 cDNA from rat liver. *Proc Natl Acad Sci S* **79**: 2793-2797.
  4. Hasemann CA, Ravichandran KG, Peterson JA and Deisenhofer (1994): Crystal structure and refinement of cytochrome P-450 at 2.3 Å resolution. *J Mol Biol* **236**: 1169-1185.
  5. Estabrook RW and Werringloer J (1977): in *Drug Metabolism Concepts*. Jerina D.M. Ed., ACS Symposium Series 44, Washington, D. C., *Am Chem Soc* **1**.
  6. Hayaishi O, Katagira M and Rothberg S (1955): Mechanism of the pyro-catechase reaction. *J Am Chem Soc*, **77**: 5450-5451.
  7. Burket U, Allinger NL (1982): *Molecular Mechanics, American Chemical Society Monograph*. **177**.
  8. Koch S, Tang SC, Holm RH and Frankel RB (1975): Ferric porphyrin thio-lates. Possible relationship to cytochrome P-450 enzymes and the structure of (p-nitrobenzenethiolato) iron(III) protoporphyrin IX dimethyl ester. *J Am Chem Soc*. **97**: 916-918.
  9. Loew GH and Kirchner RF (1975): Electronic structure and electric field gradients in oxyhemoglobin and cytochrome P-450 model compounds. *J Am Chem Soc* **97**: 7388-7390.
  10. Hyperchem Release 4 (1994): Hypercube Inc. CA
  11. 永田親義(1982): 分子および電子レベルからみたがん発生の機構, pp. 32-35. サイソス社, 東京
  12. Sipal Z, Anzenbacher P, Putz, Z, Chlumsky J and Krivanova O (1979): *Acta Biol Med Ger*. **38**: 483.
  13. Klopman G(1968): Chemical reactivity and the concept of charge- and frontier-controlled reactions. *J Am Chem Soc*, **90**: 223-234.
  14. Fleming I (1976): *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*, pp.27-32. Wiley-Interscience, New York.

= Abstract =

= Abstract =

## Theoretical Study on The Interaction Between Benzo(a)pyrene and Cytochrome P-450

Seong-Tak Doh

*Department of Clinical Pathology, Taegu Junior Health College, Taegu 718-910, Korea*

Considering the planar structure and nonpolar property of benzo(a)pyrene(B(a)p) and the planar heme part of cytochrome P-450, stacking interaction is probable. MO calculation on B(a)P and heme part of cytochrome P-450 were carried out to determine probable stacking interaction models. In this case, orbital interaction is most important. Accordingly, the stacking positions have high eigen vector in frontier orbital and bonding type between two molecules. In this way, five probable models were selected and examined by MN2 and MO method. The most probable stacking interaction model which is the 4, 5, 6 positions of B(a)P overlap  $\gamma$  carbon atom and III pyrrole ring of heme group was determined.

**Key Words:** Benzo(a)pyrene; cytochrome P-450; heme; stacking interaction; MN<sup>2</sup>; ZINDO/S; interaction energy.

[Koran J. Biomed. Lab. Sci. 1(1): p.89-94, December, 1995]

---

\* Corresponding author