

# 抗肿瘤药物替加氟与牛血清白蛋白 相互作用的热化学研究

李林尉, 王冬冬, 孙德志, 魏新庭, 刘敏, 赵强  
(聊城大学化学化工学院, 聊城 252059)

**摘要** 在 298.15 K 下, 以等温滴定微量热(ITC)实验数据为依据, 根据合理假设和 Langmuir 结合理论, 应用非线性最小方差拟合方法测定了抗肿瘤药物替加氟(Tegafur)与牛血清白蛋白(BSA)结合过程热力学性质的改变. 研究表明, 牛血清白蛋白与替加氟相互作用存在两类结合位点: (1)  $N = 52.00 \pm 0.12$ ,  $K = (9.83 \pm 0.13) \times 10^4$  L/mol,  $\Delta H = (30.10 \pm 0.17)$  kJ/mol  $> 0$ ,  $\Delta S = (196.00 \pm 0.65)$  J/(mol · K)  $> 0$ ,  $\Delta G = (-28.50 \pm 0.66)$  kJ/mol  $< 0$ , 表现为熵驱动过程, 疏水相互作用为过程的主要推动力; (2)  $N = 86.00 \pm 0.14$ ,  $K = (9.35 \pm 0.13) \times 10^4$  L/mol,  $\Delta H = (-19.80 \pm 0.17)$  kJ/mol  $< 0$ ,  $\Delta S = (28.30 \pm 0.50)$  J/(mol · K)  $> 0$ ,  $\Delta G = (-28.40 \pm 0.43)$  kJ/mol  $< 0$ , 表现为焓-熵协同过程, 氢键和静电相互作用为过程的主要推动力. 圆二色谱(CD)分析结果表明, 抗肿瘤药物替加氟诱导蛋白质(BSA)二级结构单元的相对含量发生了一定程度的变化.

**关键词** 替加氟; 牛血清白蛋白; 等温滴定微量热法; 圆二色谱

**中图分类号** O642

**文献标识码** A

**文章编号** 0251-0790(2008)06-1211-05

细胞凋亡(Apoptosis of cell)是生命科学研究领域中的重要课题<sup>[1,2]</sup>. 肿瘤细胞增殖与凋亡的非平衡匹配及其恶性转移和扩散的调控, 是发展中的疾病治疗手段——细胞凋亡干预研究的重要内容<sup>[3,4]</sup>. 抗肿瘤药物与细胞化学物质组成——蛋白质分子之间相互作用的热力学性质的测定及其作用模式的研究, 是药物诱导肿瘤细胞凋亡作用机制研究的重要途径. 替加氟(Tegafur)是一种能阻止肿瘤细胞嘧啶类核苷酸形成的抗代谢药物, 为抗肿瘤药物 5-氟尿嘧啶的衍生物, 通过在体内活化为氟尿嘧啶而起作用, 是目前临床广泛使用并对多种肿瘤具有较好疗效的抗肿瘤药物<sup>[5]</sup>. 血浆中含量最丰富的血清白蛋白能够储存和转运许多内源性和外源性物质, 对于体内药物分子的储存、输运和受体部位药理作用的发挥等具有重要的生理功能作用<sup>[6]</sup>. 又由于血清白蛋白具有易于分离和提纯的特性, 因而常被作为模型物质研究生物大分子与药物小分子之间的相互作用<sup>[7]</sup>. 药物与血清白蛋白相互作用效应及其结合模式的研究, 能从分子水平上获取药物在生命体系演变过程中许多结构和能量转化的信息, 在药物代动力学、最佳用药量、用药周期和联合用药配比的确定等方面, 也具有一定的理论和应用价值<sup>[8,9]</sup>.

本文根据合理的假设和 Langmuir 结合理论, 通过等温滴定微量热和圆二色谱分析的实验数据及其处理, 确定了牛血清白蛋白(BSA)与药物配体替加氟的结合类型、结合位点数、结合常数、结合焓、熵和吉布斯自由能变, 以及替加氟诱导 BSA 二级结构单元相对含量的改变, 并根据热力学原理对替加氟与 BSA 的相互作用进行了初步的讨论.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

滴定式微量热计(TAM 2277, 瑞典 Thermometric AB 公司), 热功率测定灵敏度为  $\pm 10$  nW, 量热计

收稿日期: 2007-10-12.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20543004, 20773059)、山东省自然科学基金(批准号: 2004ZX15)和聊城大学科研基金(批准号: 31801)资助.

联系人简介: 李林尉, 男, 教授, 主要从事药物与生物大分子相互作用的研究. E-mail: lcdxlkxb@163.com

孙德志, 男, 教授, 主要从事生物大分子溶液化学研究. E-mail: lcdxlkxb@163.com

的电标定精密度高于  $\pm 1\%$ . Jasco J-810 圆二色谱仪(日本 JASCO 公司).

牛血清白蛋白(BSA), 摩尔质量(数均)为  $66.0 \text{ kg/mol}^{[10]}$ , 购自 Sigma 公司, 其溶液用称重法配制. 替加氟(Tegafur) 购自北京百灵威化学技术有限公司. 实验用水为碱性高锰酸钾存在下制备的二次蒸馏水. 替加氟和 BSA 的溶液均用浓度为  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ ,  $\text{pH} = 7.4$  的 Tris-HCl 缓冲溶液配制.

### 1.2 药物与 BSA 作用的等温滴定量热实验

将替加氟溶液( $1.43 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ )装入  $500 \mu\text{L}$  Hamilton 注射器中, 用 612 Lund Syringe Pump 注射泵, 每次滴  $12.00 \mu\text{L}$  于  $0.50 \text{ mL}$  BSA 溶液( $4.02 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ )中. 安瓿中搅拌器转速固定为  $30 \text{ r/min}$ . 待信号返回基线稳定后启动实验, 以使搅拌热量自动扣除. 为了扣除药物和 BSA 的稀释热, 分别进行药物溶液向缓冲溶液滴定和缓冲溶液向 BSA 溶液滴定的实验.

### 1.3 药物与 BSA 作用的圆二色谱实验

Jasco J-810 型圆二色谱仪, 光源系统为氮气保护(流量为  $5 \text{ L/min}$ ), 样品池光径为  $0.1 \text{ cm}$ . 扫描速率为  $100 \text{ nm/min}$ , 分辨率为  $0.1 \text{ nm}$ , 响应时间为  $1 \text{ s}$ , 累积次数 3 次. 扫描波段为  $200 \sim 250 \text{ nm}$ . BSA 原始浓度为  $2.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ . 控制替加氟与 BSA 的摩尔比分别为 0, 52 和 86, 测其 CD 谱. 用该仪器附带的杨氏法<sup>[11]</sup>软件计算出对应 BSA 二级结构单元的相对含量.

## 2 结果与讨论

### 2.1 药物配体与蛋白质结合的滴定量热模型

对于药物配体(替加氟)与蛋白质的结合过程, 其基本假设<sup>[12]</sup>如下: (1) 一个蛋白质分子可有  $i$  类结合位点, 它们可结合相同的配体, 同类中的所有位点在热力学意义上是相同的; (2)  $i$  类结合位点相互独立, 即蛋白质分子的每类受体位点与药物配体的结合率彼此互不依赖.

基于上述假设和 Langmuir 结合理论<sup>[13,14]</sup>, ITC 实验中第  $j$  次注射所得到的热量( $Q_j$ )可表示为

$$Q_j = c_{p,0} V_{\text{cell}} \sum_{i=1}^m N_i \Delta\theta_i \Delta H_i \quad (1)$$

$$\theta_i = K_i c_L / (1 + K_i c_L) \quad (2)$$

$$c_{L,0} = c_L + c_{p,0} \sum_{i=1}^m N_i \theta_i \quad (3)$$

将式(2)代入式(3)可得到关于  $c_L$  的一元多次方程:

$$c_{L,0} = c_L + c_{p,0} \sum_{i=1}^m \frac{N_i K_i c_L}{1 + K_i c_L} \quad (4)$$

式中,  $V_{\text{cell}}$  是微量热计安瓿中蛋白质溶液的体积,  $\theta_i$ ,  $N_i$ ,  $\Delta H_i$  分别为第  $i$  类结合位点的结合率、结合位点数和结合焓,  $\Delta\theta_i$  是从第  $j-1$  次注射到第  $j$  次注射第  $i$  类结合位点结合率的增量.  $m$  是结合位点类型数.  $c_{L,0}$  和  $c_{p,0}$  分别为药物配体和蛋白质的初始浓度 ( $\text{mol/L}$ ),  $c_L$  为药物配体的游离浓度 ( $\text{mol/L}$ ),  $K_i$  为第  $i$  类结合位点的结合常数. 由式(2)和(3)可知,  $\theta_i$  与结合常数  $K_i$  有关, 在  $c_{L,0}$  和  $c_{p,0}$  已知的情况下,  $c_L$  是关于  $N_i$  和  $K_i$  的函数, 所以式(1)为含有  $K_i$ ,  $\Delta H_i$ ,  $N_i$  共  $3m$  个未知量的非线性方程. 根据等温滴定量热数据  $Q_j$ , 利用 MATLAB 7.01 软件, 首先给  $K_i$ ,  $N_i$ ,  $\Delta H_i$  共  $3m$  个未知量赋初值, 求解一元多次方程得到  $c_L$ , 以  $Q_j$  对  $c_{L,0}$  进行非线性最小方差拟合, 可得到  $3m$  个热力学参数. 通过拟合曲线(见图 1)与实验点的拟合度的回归分析, 当  $m=2$  时, 实验测定热量值( $Q_{j,e}$ )与根据结合模型计算出的热量值( $Q_{j,c}$ )的差方和  $\sum (Q_{j,c} - Q_{j,e})^2$  为最小, 因此, 通过非线性拟合处理可以确定本结合体系两类结合的  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $\Delta H_1$ ,  $\Delta H_2$ ,  $N_1$  和  $N_2$  6 个热力学参数值. 根

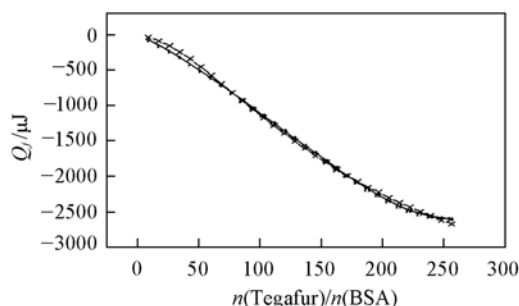


Fig. 1 Non-linear fitting curve of the binding heat vs. the molar ratio of Tegafur to BSA

The line is the result of simulation, and the point is gotten from experiment.

据热力学原理  $\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T\Delta S$ , 又可求出该结合过程体系的吉布斯自由能变和熵变. 上述数据处理结果见表 1.

Table 1 Thermodynamic parameters for the binding of tegafur to BSA at 298.15 K\*

| Parameter   | $N_i$        | $K/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$ | $\Delta H/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$ | $\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$ | $\Delta S/(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$ |
|-------------|--------------|--------------------------------------|--|--|---|
| First site  | 52.00 ± 0.12 | $(9.83 \pm 0.13) \times 10^4$        | 30.10 ± 0.17                                 | -28.50 ± 0.66                                | 196.00 ± 0.65   |
| Second site | 86.00 ± 0.14 | $(9.35 \pm 0.13) \times 10^4$        | -19.80 ± 0.17                                | -28.40 ± 0.43                                | 28.30 ± 0.50  |

\* Data are expressed as mean ± S. D. .

## 2.2 结合过程及结合体系的热力学性质的改变

本文中的结合体系药物与蛋白质的结合可设想涉及以下过程: (1) 药物和蛋白质的溶解稀释; (2) 蛋白质与单个药物分子的作用; (3) 蛋白质在作用位点与药物配体的稳定结合作用; (4) 药物诱导蛋白质分子发生构象变化. 在 ITC 实验中已设法扣除了药物与蛋白质的溶解稀释热效应, 又因形成两类稳定作用位点时自由药物分子的浓度远低于量热滴定实验过程中样品池内药物分子的浓度, 所以过程(1)和(2)的热效应可忽略不计, 因此可认为体系的热效应主要是过程(3)和(4)产生的.

结合过程的发生及其结合体系热力学性质的改变是体系作用物质诸种相互作用效应综合平衡的结果. 在结合过程中: (1) 药物和蛋白质分子表面的极性基团对溶剂水化层结构的破坏效应, 因为在折叠过程中, 蛋白质折叠态非极性疏水侧链之间的范德华作用[或称分散效应(Dispersion effect)]不足以抵偿蛋白质伸展态极性水分子诱导疏水基团偶极产生的静电相互作用[或称诱导效应(Inductive effect)], 从而导致的蛋白质疏水链的折叠效应( $\Delta H_{\text{非极性链}}$ )<sup>[15]</sup>, 以及蛋白质分子表面极性侧链之间相互作用的效应( $\Delta H_{\text{极性链}}$ ), 为吸热效应; (2) 药物分子与蛋白分子表面的极性基团之间的静电相互作用以及氢键作用<sup>[16]</sup>, 蛋白质折叠态众多水分子之间的氢键相互作用对伸展态水分子与疏水侧链的相互作用的取代效应( $\Delta H_{\text{溶剂}}$ ), 以及因药物和蛋白质的极性基团与溶剂水分子的相互作用而导致的溶剂水分子在极性基团周围一定程度的聚集分布效应( $\Delta H_{\text{溶剂}}$ ), 为放热效应; (3) 折叠态称之为“有序、紧密之构造”, 伸展态称之为“无序、散漫之构造”, 折叠过程水溶剂中蛋白质极性和非极性链  $\Delta S_{\text{链}}$  (构象熵变)  $< 0$ , 为熵减效应; 因蛋白质(BSA)折叠过程中非极性侧链疏水作用形成疏水核心<sup>[17]</sup>, 导致伸展态非极性侧链强迫溶剂水分子形成的刚性有序结构[或称为笼结构(Cathrate structure)]的破坏, 致使部分溶剂水分子迁出疏水核心进入溶液本体, 转化为自由水分子而产生较大的  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变  $> 0$ ), 为熵增效应; 按照溶剂化分层结构理论<sup>[18]</sup>, 处于原水化层与溶液本体之间的次水化层是活性很大的无序排列的结构破坏区域, 体系作用物质适量的极性基团对溶剂次水化层结构的影响, 冰山四面体结构适量增加, 致使溶剂的  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (结构熵变)  $> 0$ , 亦为熵增效应. 与  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变) 相比,  $\Delta S_{\text{链}}$  (构象熵变) 和  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (结构熵变) 数值一般较小. 能对蛋白质折叠形成稳定构象做出单项较大贡献的当属非极性疏水侧链引起的  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变).

体系的焓变和熵变的改变特征是分析结合过程的驱动特征及其主要推动作用力的热力学依据. 根据 Ross 等<sup>[19]</sup>的观点和本结合体系的热力学性质的改变(见表 1)可认为, 第一类结合,  $\Delta H > 0$  (吸热),  $\Delta S > 0$  (熵增),  $T\Delta S > \Delta H$ , 熵增效应较大, 并决定该过程的  $\Delta G < 0$ , 故表现为熵驱动过程, 疏水相互作用可能是熵驱动的主要推动力; 第二类结合,  $\Delta H < 0$  (放热),  $\Delta S > 0$  (熵增)  $|\Delta H| > |T\Delta S|$ , 放热和熵增效应均导致该过程的  $\Delta G < 0$ , 故表现为以焓驱动为主的焓-熵协同驱动过程, 氢键和静电相互作用可能是焓-熵协同驱动的主要推动力. 综合本体系结合过程中的吸热和放热效应, 前者较大导致结合焓  $\Delta H > 0$ , 后者较大导致结合焓  $\Delta H < 0$ . 第一类结合的熵变  $\Delta S > 0$ , 正值较大, 可能为体系熵变因素中  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵) 占有较大份额所致. 第二类结合的熵变  $\Delta S > 0$ , 数值较小, 可能是伴随着体系作用位点的形成, 游离药物分子减少, 蛋白质疏水核心基本稳定, 疏水作用相对减弱,  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变) 降低; 而  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (结构熵变) 和多肽链的  $\Delta S_{\text{链}}$  (构象熵变) 作用相对增大, 诸熵变因素的综合效应所致. 结合自由能  $\Delta G$  均为负值, 说明两类结合过程在本实验条件下可形成稳定的“小分子-大分子”结合体.

## 2.3 药物浓度对蛋白质(BSA)二级结构的影响

蛋白质分子构象是其生物功能的基础. 药物分子可通过调节蛋白质的构象变化发挥其药理药效作

用<sup>[20]</sup>. 根据圆二色谱分析的结果(见图2和表2)可知, 不同浓度的药物替加氟致使蛋白质(BSA)各二级结构单元的相对含量均发生了不同的改变, 由此说明药物与蛋白质的相互作用可诱导蛋白质(BSA)分子构象发生一定程度的变化.

**Table 2 Influence of tegafur on the secondary structure element of BSA at 298.15 K<sup>\*</sup>**

| $n(\text{Tegafur})/$<br>$n(\text{BSA})$ | $\alpha$ -Helix(%) | $\beta$ -Sheet(%) | $\beta$ -Turn(%) | Random coil(%) |
|---|--------------------|-------------------|------------------|----------------|
| 0                                       | 33.8±0.4           | 32.0±0.2          | 6.3±0.1          | 27.9±0.3       |
| 52                                      | 32.0±0.4           | 32.8±0.4          | 7.9±0.3          | 27.3±0.2       |
| 86                                      | 32.2±0.2           | 32.7±0.4          | 7.4±0.3          | 27.8±0.6       |

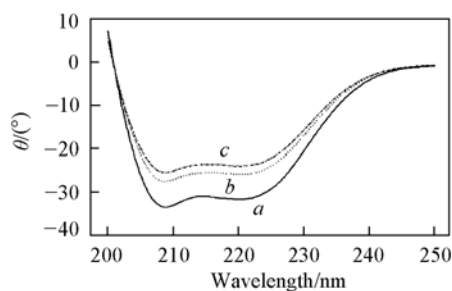
\* Data are expressed as mean ± S. D. .

分析表2中数据, 相对无药物作用下 [ $n(\text{Tegafur})/n(\text{BSA}) = 0$ ] 蛋白质(BSA)的结构状态, 比较两种不同浓度药物对蛋白质(BSA)各结构单元相对含量改变的影响可以看出, 在低浓度 [ $n(\text{Tegafur})/n(\text{BSA}) = 52$ ] 药物作用下: (1) 蛋白质各结构单元的相对含量均发生了较大变化(各结构单元变化绝对值的加和为4.8个百分点), 体系的结构无序性改变较大; (2) 药物对蛋白质(BSA)分子疏水核心的主要结构单元 $\alpha$ 螺旋和 $\beta$ 折叠的相对含量变化的影响较强; (3) 两亲结构单元 $\alpha$ 螺旋相对含量降低幅度较大, 蛋白质分子在其表面与药物和水溶剂的分子较易结合的机会减少, 少量药物分子则有可能进入蛋白质分子疏水核心, 破坏疏水基团周围溶剂水分子有序排列而成的刚性“笼结构”, 致使部分溶剂水分子转入溶液本体, 成为自由水分子, 以形成稳定的疏水核心. 在低浓度药物作用下, 体系的疏水相互作用效应较大; 在高浓度 ( $c_{\text{Tegafur}}/c_{\text{BSA}} = 86$ ) 药物作用下: (1) 药物致使蛋白质(BSA)各结构单元相对含量的变化较小(各结构单元变化绝对值的加和为3.5个百分点, 相当于低浓度药物作用下的  $3.5/4.8 = 0.73$ ), 体系的结构无序性改变较小; (2) 药物对蛋白质(BSA)分子疏水核心的主要结构单元 $\alpha$ 螺旋和 $\beta$ 折叠相对含量变化的影响相对较弱, 在相对低浓度药物作用下, 两结构单元相对含量的变化则更小(其变化绝对值的加和仅为0.3个百分点), 体系的疏水相互作用效应可能已打折扣; (3) 两亲结构 $\alpha$ 螺旋结构单元的相对含量降低较小, 尤其是在相对低浓度药物作用下, 占蛋白质结构单元相对含量份额较大的 $\alpha$ 螺旋的相对含量却反而增加, 由此可能导致较多的药物和水溶剂的分子与 $\alpha$ 螺旋向外暴露于溶剂的极性和带电残基产生氢键和静电相互作用. 高浓度药物作用下体系的氢键和静电相互作用效应可能相对较大.

综上所述, 在298.15 K下, 药物配体替加氟与牛血清白蛋白(BSA)相互作用存在两类结合位点. 第一类结合表现为熵驱动过程, 疏水相互作用为熵驱动的主要推动力. 第二类结合表现为焓-熵协同驱动过程, 氢键和静电相互作用为焓-熵协同驱动的主要推动力. 替加氟与牛血清白蛋白形成了较为稳定的“小分子-大分子”结合体. 本文结合体系溶液环境中替加氟诱导牛血清白蛋白分子构象发生了一定程度的变化.

## 参 考 文 献

- [1] Golstein P. . Science[J], 1998, **281**: 1283
- [2] Peter M. E. , Heuffelder A. E. , Hengartner M. O. . Proc. Natl. Acad. Sci. [J], 1997, **94**: 12736—12737
- [3] Thornberry N. A. , Lazebnik Y. . Science[J], 1998, **281**: 1312—1316
- [4] Rudin C. M. , Thompson C. B. . Annu. Rev. Med. [J], 1997, **48**: 267—281
- [5] Komatsu T. , Yamazaki H. , Shimada N. , *et al.* . Clin. Cancer Res. [J], 2001, **7**: 675—681
- [6] Wang R. M. , Song J. F. , He Y. F. , *et al.* . Chin. Chem. Lett. [J], 2006, **17**(11): 1495—1498
- [7] WANG Yong(王勇), LI Lin-Xi(李林玺), ZHAO Dong-Bao(赵东保), *et al.* . Acta Chim. Sinica(化学学报)[J], 2006, **64**(13): 1361—1366
- [8] Sulkowska A. , Rownicka J. , Bojko B. , *et al.* . J. Mol. Struct. [J], 2003, **651**: 133—140
- [9] MA Jian(马建), ZHANG Zhi-Qi(张志琪). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, **28**(7): 1255—1259



**Fig. 2 Circular dichroism spectra of BSA ( $2.0 \times 10^{-6}$  mol/L) in Tris-HCl buffer ( $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L) at pH  $\approx 7.4$  as a function of tegafur concentration**

$n(\text{Tegafur})/n(\text{BSA})$  is 0(a), 52(b) and 86(c).

- [10] Moosavi-Movahedi A. A., Bordbar A. K., Taleshi A. A., *et al.*. J. Biochem. Cell Biol. [J], 1996, **28**: 991—998
- [11] Chen Y. H., Yang J. T.. Biochem. Biophys. Res. Commun. [J], 1971, **44**(6): 1285—1291
- [12] Nielsen A. D., Borch K., Westh P.. Biochim. Biophys. Acta [J], 2000, **1479**: 321—331
- [13] Lin L. N., Mason A. B., Woodworth R. C., *et al.*. Biochemistry [J], 1991, **30**(50): 11660—11669
- [14] Wiseman T., Wiliston S., Brandts J. F., *et al.*. Anal. Biochem. [J], 1989, **179**(1): 131—137
- [15] WANG Jing-Yan(王镜岩), ZHU Sheng-Geng(朱圣庚), XU Chang-Fa(徐长法). Biochemistry(生物化学) [M], Beijing: Higher Education Press, 2002: 202—237
- [16] HU Xing-Bang(胡兴邦), LI Hao-Ran(李浩然), LIANG Wan-Chun(梁婉春), *et al.*. Acta Phys-Chin. Sin. (化学学报) [J], 2005, **21**(9): 952—956
- [17] He X. M., Carter D. C.. Nature [J], 1992, **358**: 209—215
- [18] LI Lin-Wei(李林尉), CHU De-Ying(褚德莹), LIU Rui-Lin(刘瑞麟). Acta Phys. Chim. Sin. (物理化学学报) [J], 1999, **15**(3): 265—268
- [19] Ross P. D., Subramanian S.. Biochemistry [J], 1981, **20**: 3096—3102
- [20] SU Zhong(苏忠), QIN Chuan(秦川), XIE Meng-Xia(谢孟峡), *et al.*. Acta Chim. Sinica(化学学报) [J], 2007, **65**(4): 329—336

## Thermochemistry Study on Interaction Between Anti-tumor Drug Tegafur and Bovine Serum Albumin

LI Lin-Wei\*, WANG Dong-Dong, SUN De-Zhi, WEI Xin-Ting, LIU Min, ZHAO Qiang  
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract** From the assumptions of this binding system and the Langmuir's binding theory, the interaction between tegafur and bovine serum albumin (BSA) was investigated by the nano-watt-scale isothermal titration calorimetry and the circular dichroism (CD) spectrometry at 298.15 K. The results show that there are two classes of binding sites on the protein BSA for tegafur. For the first class of binding, the binding site number is  $N = 52.00 \pm 0.12$ , the binding constant is  $K = (9.83 \pm 0.13) \times 10^4$  L/mol, the binding enthalpy is  $\Delta H = (30.10 \pm 0.17)$  kJ/mol, the binding entropy is  $\Delta S = (196.00 \pm 0.65)$  J/(mol · K), and the binding Gibbs free energy is  $\Delta G = (-28.50 \pm 0.66)$  kJ/mol. This binding is an entropy driven process, and the hydrophobic interaction is the main motive-force for the process. For the second class of binding, the binding sites number is  $N = 86.00 \pm 0.14$ , the binding constant is  $K = (9.35 \pm 0.13) \times 10^4$  L/mol, the binding enthalpy is  $\Delta H = (-19.80 \pm 0.17)$  kJ/mol, the binding entropy is  $\Delta S = (28.30 \pm 0.50)$  J/(mol · K), and the binding Gibbs free energy is  $\Delta G = (-28.40 \pm 0.43)$  kJ/mol. This binding is an enthalpy-entropy synergically driven process, and the hydrogen bond and electrostatic interactions are the main motive-force for the process. The analytical results of circular dichroism (CD) spectra show that the interactions between tegafur and BSA resulted in the change of the relative contents of secondary structure units of protein BSA in these two classes of the binding processes. The thermodynamic effects of the binding system are integrated results which come from different interactional effects in the binding process. The conformations of the protein BSA underwent changes induced by the anti-tumor drug tegafur in the solution medium of this binding system.

**Keywords** Tegafur; Bovine serum albumin; Isothermal titration calorimetry; Circular dichroism spectrometry

(Ed.: S, I)