

• 研究论文 •

## 抗肿瘤药物 5-氟尿嘧啶与人血清白蛋白相互作用的热力学研究

李林尉\* 王冬冬 孙德志 刘 敏 曲秀葵

(聊城大学化学化工学院 聊城 252059)

**摘要** 在 298.15 K 下, 根据本结合过程的假设和 Langmuir 结合理论, 用等温滴定微量热和圆二色谱分析法研究了抗肿瘤药物 5-氟尿嘧啶(5-FU)与人血清白蛋白(HSA)的相互作用. 研究表明, 蛋白质(HSA)与药物配体 5-氟尿嘧啶的相互作用存在两类结合位点. 第一类结合, 结合位点数  $N=71\pm0.1$ , 结合常数  $K=(1.46\pm0.016)\times10^5\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合焓  $\Delta H=(39.61\pm0.220)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合熵  $\Delta S=(231.68\pm0.025)\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ , 结合自由能  $\Delta G=(-29.48\pm0.030)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . 结合过程为熵驱动过程, 疏水相互作用是过程的主要推动力; 第二类结合, 结合位点数  $N=140\pm0.2$ , 结合常数  $K=(1.49\pm0.032)\times10^5\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合焓  $\Delta H=(-19.31\pm0.103)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合熵  $\Delta S=(34.30\pm0.055)\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ , 结合自由能  $\Delta G=(-29.53\pm0.041)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , 结合过程为焓-熵协同驱动过程, 氢键和静电相互作用是过程的主要推动力. 圆二色谱分析结果表明, 在两类结合过程中, 药物 5-氟尿嘧啶(5-FU)的作用致使蛋白质(HSA)二级结构单元的相对含量发生了变化.

**关键词** 等温滴定微量热法; 圆二色谱; 5-氟尿嘧啶; 人血清白蛋白

## Thermodynamic Study on Interaction between Anti-tumor Drug 5-Fluorouracil and Human Serum Albumin

LI, Lin-Wei\* WANG, Dong-Dong SUN, De-Zhi LIU, Min QU, Xiu-Kui

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059)

**Abstract** From the assumptions of this binding process and Langmuir's binding theory, the interaction between 5-fluorouracil and human serum albumin (HSA) has been 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 HSA for the 5-fluorouracil. For the first class of binding, the binding site number is  $N=71\pm0.1$ , the binding constant is  $K=(1.46\pm0.016)\times10^5\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ , the binding enthalpy is  $\Delta H=(39.61\pm0.220)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , the binding entropy is  $\Delta S=(231.68\pm0.025)\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ , and the binding Gibbs free energy is  $\Delta G=(-29.48\pm0.030)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . 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 site number is  $N=140\pm0.2$ , the binding constant is  $K=(1.49\pm0.032)\times10^5\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ , the binding enthalpy is  $\Delta H=(-19.31\pm0.103)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , the binding entropy is  $\Delta S=(34.30\pm0.055)\text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ , and the binding Gibbs free energy is  $\Delta G=(-29.53\pm0.041)\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ . 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 5-fluorouracil and HSA changed the relative contents of secondary structure units of protein HSA in these two classes of binding processes. The thermodynamic effects of the binding system are integrated results which come from different interactions in the binding process. The conformations of the

\* E-mail: lcdxlkxb@163.com; Tel.: 0635-8238337.

Received October 8, 2006; revised April 6, 2007; accepted July 10, 2007.

国家自然科学基金(Nos. 20543004, 20773059)、山东省自然科学基金(No. 2004ZX15)和聊城大学科研基金(No. 31801)资助项目.

protein HSA underwent changes induced by the anti-tumor drug 5-fluorouracil in the solution medium of this binding system.

**Keywords** isothermal titration calorimetry; circular dichroism spectrometry; 5-fluorouracil; human serum albumin

氟尿嘧啶属于第一代取代嘧啶类药物, 其中 5-氟尿嘧啶(5-FU)在水环境中具有抗肿瘤活性的双酮式结构和易引起基因突变的烯醇式结构, 在体内能干扰、阻断 DNA, RNA 和蛋白质合成而发挥抗肿瘤作用, 是目前临床广泛使用并对多肿瘤具有较好疗效的抗肿瘤药物<sup>[1,2]</sup>. 药物小分子与生物大分子相互作用的研究是生命体系科学研究的一个重要内容, 探讨生物大分子与药物小分子配体间相互作用的本质, 对于从分子水平理解诸如药物发生效用的生命过程具有基础和重要的意义. 根据药物抗肿瘤机理的研究, 虽然某些抗肿瘤药物与 DNA 的特异性相互作用是其抗肿瘤活性的主要原因, 但 DNA 并非是抗肿瘤药物的唯一靶分子<sup>[3]</sup>, 抗肿瘤药物与蛋白质的特异性相互作用及其引起的蛋白质的构象变化亦是其诱导肿瘤细胞凋亡作用机制研究的目标、内容和途径, 同时也将对发展中的疾病治疗手段——细胞凋亡干预研究提供可靠的基础信息<sup>[4]</sup>. 作为哺乳动物血浆中含量最丰富的蛋白质, 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、受体部位药理作用的发挥等过程具有广泛的功能作用. 由于血清白蛋白重要的生理功能和易于分离、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<sup>[5]</sup>、金属离子<sup>[6,7]</sup>或表面活性剂分子<sup>[8]</sup>之间的相互作用. 药物与人血清白蛋白(HSA)的结合很大程度上能够影响药物在人体内的吸收和代谢, 因而对药物与 HSA 结合模式的研究, 能够获取许多生命体系演变过程中的结构和能量的转化信息, 在药物代谢动力学和药物最佳浓度的确定等方面亦具有一定的理论和应用价值. 微量热法的非特异性有助于药物与生物大分子特异性相互作用的研究, 圆二色谱分析法对溶液中蛋白质构象变化的研究方便、有效、较为准确. 本文根据可能的假设和 Langmuir 结合理论, 通过等温滴定微量热和圆二色谱实验数据的测定, 运用非线性最小方差拟合方法和杨氏计算方法, 确定了药物配体(5-FU)与蛋白质(HSA)的结合类型、结合位点数、结合常数、结合体系的焓变、熵变、吉布斯自由能以及药物 5-FU 诱导蛋白质二级结构单元相对含量的改变. 根据热力学原理和体系作用物质的结构性质对药物配体 5-FU 与蛋白质(HSA)的相互作用进行了初步的讨论.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

纳瓦级滴定式微量热计(TAM 2277, 瑞典 Thermometric AB 公司). 用随机所带 Digitam 4.1 软件控制实验过程并进行数据采集和处理. 通过测定蔗糖稀释放验证<sup>[9]</sup>, 该量热计的电标定精密度高于 $\pm 1\%$ . Jasco J-810 圆二色谱仪(Japan). 人血清白蛋白(HSA), 摩尔质量为  $66.5 \times 10^3 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ <sup>[10]</sup>, 购自 Sigma 公司, 其溶液浓度用称重法配制. 5-氟尿嘧啶(5-FU)(结构见图 1), 购自北京百灵威化学技术有限公司. 三(羟甲基)胺基甲烷(Tris)、盐酸、氯化钠等均为分析纯试剂, 实验用水是在碱性高锰酸钾存在下制备的二次蒸馏水. 5-氟尿嘧啶和 HSA 的溶液均用浓度为  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , pH=7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液配制.

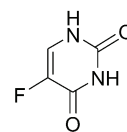


图 1 5-氟尿嘧啶的结构式

Figure 1 Molecular structure of 5-fluorouracil

### 1.2 5-氟尿嘧啶与 HSA 结合的等温滴定量热实验

将 5-氟尿嘧啶溶液装入 500  $\mu\text{L}$  Hamilton 注射器, 用 612 Lund Syringe Pump 注射泵, 每次滴 12.00  $\mu\text{L}$  于 0.50 mL HSA 溶液中. 滴定时间间隔足够长(40 min), 以使信号返回基线. 安瓿中搅拌器转速固定在  $30 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 待基线在搅拌下稳定后启动实验, 以使搅拌产生的热量被自动扣除. 实验温度为  $(298.15 \pm 0.01) \text{ K}$ . 为扣除 5-氟尿嘧啶和 HSA 的稀释热, 分别进行 5-氟尿嘧啶溶液向缓冲溶液中滴定和缓冲溶液向 HSA 溶液中滴定的实验.

### 1.3 5-氟尿嘧啶与 HSA 作用的圆二色谱实验

HSA 是光学活性物质, 因此可通过圆二色谱(CD)分析溶液中药物诱导 HSA 的构象改变. 实验时光源系统用氮气保护(流量为  $5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 样品池的光径为 0.1 cm. 测量参数: 扫描速率  $100 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ , 分辨率 0.1 nm, 响应时间 1 s, 累积次数 3 次. 扫描波段为 200~250 nm, HSA 原始浓度为  $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . 向上述指定浓度 HSA 中

分别加入不同量的 5-氟尿嘧啶, 控制 5-氟尿嘧啶与 HSA 摩尔比率  $M_r$  ( $c_{5-FU}/c_{HSA}$ ) 分别为 0, 71 和 140. 用 Jasco J-810 圆二色谱仪(Japan)测其 CD 谱, 并用该仪器附带的杨氏方法软件计算出本结合体系两类作用位点对应 HSA 二级结构单元的相对含量.

## 2 结果与讨论

### 2.1 药物配体 5-氟尿嘧啶与蛋白质(HSA)结合的滴定量热模型

对于药物配体 5-氟尿嘧啶与蛋白质(HSA)的结合过程, 其基本假设为<sup>[11]</sup>: (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, 即蛋白质分子的每一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>[12,13]</sup>有

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

$$c_{L,0} = c_L + c_{P,0} \sum_{i=1}^m N_i \theta_i \quad (2)$$

式中  $\theta_i$ ,  $K_i$  和  $N_i$  分别是第  $i$  类位点的结合率、结合常数和结合位点数(或曰药物配体 5-FU 与 HSA 结合的摩尔比率  $M_r = c_{5-FU}/c_{HSA}$ ),  $c_{L,0}$  和  $c_{P,0}$  分别为配体和蛋白质的初始浓度,  $c_L$  是配体的游离浓度. 将(1)式代入(2)式有

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

ITC 实验中第  $j$  次注射所得到的热量( $Q_j$ )可表示为

$$Q_j = c_{P,0} V_{\text{cell}} \sum_{i=1}^m N_i \Delta \theta_i \Delta H_i \quad (4)$$

式中  $V_{\text{cell}}$  是微量热计中安瓿(反应器)中被滴定剂的体积,  $\Delta \theta_i$  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,  $\Delta H_i$  是第  $i$  类位点的结合焓. 由(3)式可知, 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(4)式含有  $K_i$ ,  $\Delta H_i$ ,  $N_i$  共  $3m$  个未知量, 根据等温滴定量热数据( $Q_j$ ), 利用 MATLAB 7.01 软件以  $Q_j$  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. 通过拟合曲线与实验点的拟合度的回归分析, 当药物配体与 HSA 结合时, 在蛋白质 HSA 分子上有两类结合位点 ( $m=2$ , 方差最小)是合理的<sup>[14~16]</sup>(见图 3). 因此, 通过非线性拟合处理可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  $N_2$  六个热力学参数值. 根据热力学原理,

$$\Delta G = -RT \ln K, \Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (5)$$

又可求出该结合过程体系的吉布斯自由能变和熵变(见

表 1).

表 1 298.15 K 下 HSA 与 5-氟尿嘧啶结合的热力学参数<sup>a</sup>

Table 1 Thermodynamic parameters for the binding of 5-fluorouracil to HSA at 298.15 K<sup>a</sup>

Parameter	Affinity sites	
	First	Second
$N_i$ or $M_r$	$71 \pm 0.1$	$140 \pm 0.2$
$K/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$(1.46 \pm 0.016) \times 10^5$	$(1.49 \pm 0.032) \times 10^5$
$\Delta H/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$39.61 \pm 0.220$	$-19.31 \pm 0.103$
$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$-29.48 \pm 0.030$	$-29.53 \pm 0.041$
$\Delta S/(\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	$231.68 \pm 0.025$	$34.30 \pm 0.055$

<sup>a</sup> Data are expressed as mean  $\pm$  S.D. ( $N=3$ ).

### 2.2 结合过程的结合位点数和结合常数

由图 2 可见, 随药物与 HAS 物质的量比  $M_r$  增加, 药物 5-氟尿嘧啶与 HSA 的表现摩尔结合焓(累积热量与药物的物质的量比)的变化呈现为先增加后减小(此趋势转化时 5-氟尿嘧啶与 HSA 的物质的量比  $M_r$  约为 73 左右), 然后趋于平稳(此趋势转化时 5-氟尿嘧啶与 HSA 的物质的量比  $M_r$  约为 143 左右). 由图 3 拟合曲线可看出, 通过实验预测的两类结合位点的物质的量比  $M_r$  与应用非线性最小方差拟合方法(拟合曲线见图 3)确定的两类结合的结合位点数分别为 71 和 140 是基本吻合的, 这说明本文药物与 HSA 结合作用的假设是可行的. 由表 1 可见, 两类结合体系的  $K$  值均相对较大, 说明其结合力较强, 结合状态亦较为稳定.

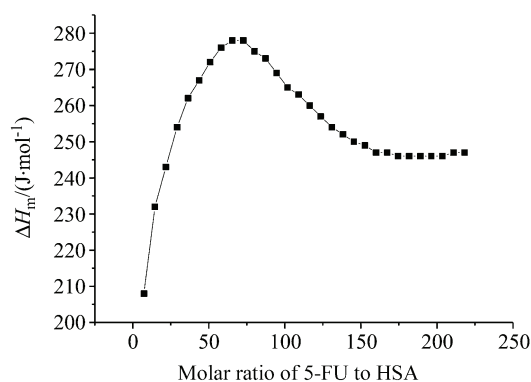


图 2 表观摩尔结合焓对 5-氟尿嘧啶与 HSA 物质的量比率 ( $M_r$ ) 的实验曲线

Figure 2 Plot of the apparent molar binding enthalpy versus the molar ratio of 5-fluorouracil to HSA

### 2.3 结合过程及其作用物质的相互作用和体系的热力学性质的改变

本结合体系药物与蛋白质的结合可设想涉及以下过程: a. 药物和蛋白质的溶解稀释; b. 蛋白质与单个药物分子的作用; c. 蛋白质在两类作用位点与药物配体的

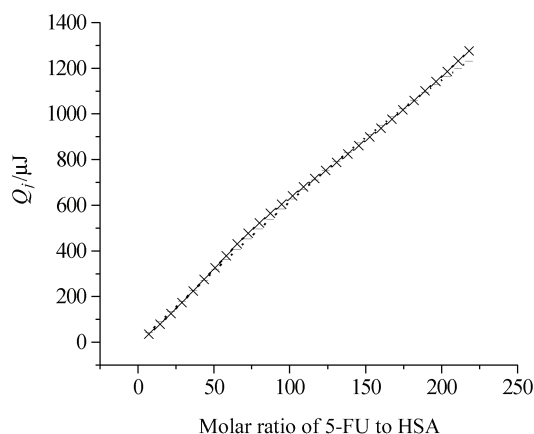


图3 结合反应热  $Q_b$  对 5-氟尿嘧啶与 HSA 物质的量之比的非线性拟合曲线

Figure 3 Plot of the binding heat  $Q_b$  versus the molar ratio of 5-fluorouracil to HSA

The line is the result of simulation and the point is obtained from experiment

稳定结合作用; d. 药物诱导蛋白质发生的构象变化. 因为在 ICT 实验中我们已经设法扣除了药物与蛋白质的溶解稀释热效应, 又因为形成稳定两类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 a, b 过程的热效应可忽略不计. 因此可以认为, 本结合体系的热效应主要是药物配体与蛋白质分子的稳定结合及其诱导产生的蛋白质分子的构象变化(即 c, d 过程)而产生的.

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>[17]</sup>. 根据圆二色谱分析的研究结果(见表 2、图 4)可以看出, 本结合体系中蛋白质(HSA)的二级结构单元的相对含量是不同的, 这说明伴随着本结合体系两类结合位点的形成, 不同浓度的药物配体与蛋白质的相互作用诱导蛋白质分子构象发生了一定程度的变化.

表2 298.15 K 下 5-氟尿嘧啶对 HSA 二级结构单元相对含量的影响<sup>b</sup>

Table 2 Influence of 5-fluorouracil on the secondary structure elements of HSA at 298.15 K<sup>b</sup>

$c_{5-FU}/c_{HSA}$	$\alpha$ -Helix/%	$\beta$ -Sheet/%	$\beta$ -Turn/%	Random coil/%
0	31.9±0.1	31.3±0.3	9.0±0.1	27.8±0.4
71	30.3±0.2	31.3±0.2	10.8±0.4	27.6±0.3
140	31.7±0.4	29.7±0.3	10.0±0.1	28.5±0.3

<sup>b</sup> Data are expressed as mean±S.D. (N=3).

根据蛋白质折叠热力学原理<sup>[18]</sup>, 蛋白质的折叠过程是以自由能( $\Delta G$ )达最低趋势由其伸展态(或曰去折叠, Unfolding)向其折叠态(Folding)演变的过程, 蛋白质的构象变化及稳定结构的形成是其发生折叠的结果. 蛋白质折叠的热力学基础可表示为  $\Delta G = G_F - G_U = \Delta H - T\Delta S$

$= \Delta H_{\text{链}} + \Delta H_{\text{溶剂}} - T\Delta S_{\text{链}} - T\Delta S_{\text{溶剂}}$ , 折叠过程的发生取决于蛋白质多肽链和溶剂的焓变( $\Delta H$ )和熵变( $\Delta S$ ).  $\Delta H_{\text{链}}$ 取决于折叠过程中蛋白质各残基之间及其与溶剂之间的相互作用,  $\Delta S_{\text{链}}$ 取决于蛋白质多肽链发生折叠的构象变化, 而  $\Delta H_{\text{溶剂}}$ 和  $\Delta S_{\text{溶剂}}$ 则取决于结合体系中诸种相互作用对溶剂水分子的分布和结构的影响.

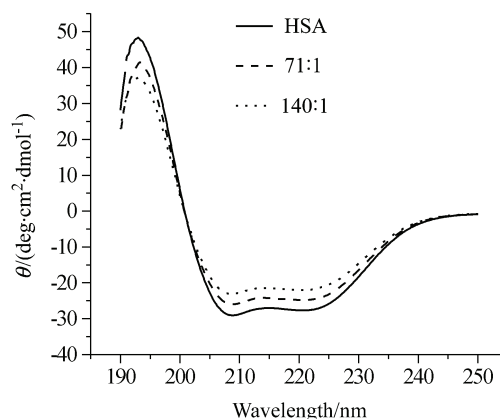


图4 Tris-HCl 缓冲溶液中(pH=7.4)药物浓度对人血清白蛋白(HSA)圆二色谱的影响(图中比例为 5-氟尿嘧啶与 HSA 的浓度比)

Figure 4 Circular dichroism spectra of HSA (2  $\mu\text{mol/L}$ ) in Tris-HCl buffer (10 mol/L) at pH 7.4 as a function of 5-fluorouracil concentration

本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, 因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中的偶极而产生的静电相互作用(或称诱导效应 inductive effect)而导致的蛋白质疏水链的折叠效应( $\Delta H_{\text{非极性链}}$ )<sup>[18]</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>[19]</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、坚密之构造”, 伸展态称之为“无序、散漫之构造”, 折叠过程多肽链的  $\Delta S_{\text{链}}$ (构象熵变) $<0$ , 为熵减效应; 因蛋白质(HSA)折叠过程中非极性侧链疏水作用形成疏水核心<sup>[20]</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(或曰笼结构, clathrate 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的较大  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变)  $> 0$ , 为熵增效应; 按照溶剂化分层结构理论<sup>[21]</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.  $\Delta S_{\text{链}}$  (构象熵变) 和  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (结构熵变) 与  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变) 相比, 数值一般较小. 能对蛋白质折叠形成稳定构象作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)<sup>[18]</sup>.

体系的焓变和熵变的改变特征是分析结合过程驱动及其作用推动力的热力学依据. 根据 Ross 和 Subramanian 的观点<sup>[22]</sup>和本结合体系的热力学性质的改变, 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. 对于本结合体系的热效应, 综合结合过程中的吸热效应和放热效应, 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, 为体系熵变因素中  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变) 占有较大份额所致. 第二类结合的熵变  $\Delta S > 0$ , 数值较小, 可能是伴随着两类作用位点的形成, 游离药物分子的减少, 蛋白质疏水核心的基本稳定, 疏水作用的相对减弱,  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (疏水熵变) 的降低, 而  $\Delta S_{\text{溶剂}}$  (结构熵变) 和多肽链的  $\Delta S_{\text{链}}$  (构象熵变) 作用的相对增大, 熵变因素的综合效应所致. 两类结合的  $\Delta G$  皆为绝对值较大并接近的负值, 说明两类结合过程在本实验条件下是热力学自发过程, 形成了较为稳定的“大分子-小分子”的结合体.

### 3 结论

298.15 K 下, 人血清白蛋白(HSA)与药物配体 5-氟尿嘧啶(5-FU)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, 驱动作用力主要为疏水相互作用; 第二类结合, 表现为焓-熵协同驱动过程. 驱动作用力主要为氢键和静电相互作用. 在本结合体系的溶液环境中药物(5-FU)诱导蛋白质(HSA)分子构象发生了一定程度的变化.

### References

- Forastiere, A. A.; Metch, B.; Schuller, D. E.; Ensley, J. F.; Hutchins, L. F. *J. Clin. Oncol.* **1992**, *10*, 1245.
- Vokes, E. E.; Mick, R.; Lester, E. P. *J. Clin. Oncol.* **1992**, *9*, 1376.
- Wang, K. *Textbook of Bioinorganic Chemistry*, Tsinghua University Press, Beijing, **1998**, p. 229 (in Chinese). (王夔, 生物无机化学, 清华大学出版社, 北京, **1998**, p. 229.)
- Zeng, Y.-Y. *Science Foundation in China* **1999**, *3*, 137 (in Chinese). (曾耀英, 中国科学基金, **1999**, *3*, 137.)
- Wang, Y.; Li, L.-X.; Zhao, D.-B.; Zhang, W.; Liu, X.-H. *Acta Chim. Sinica* **2006**, *64*, 1361 (in Chinese). (王勇, 李林玺, 赵东保, 张卫, 刘绣华, 化学学报, **2006**, *64*, 1361.)
- Sato, T.; Ando, Y.; Susuli, S.; Mikami, F.; Ikemizu, S.; Nakamura, M. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 491.
- Xu, C.-Q.; Zhang, H.-Z.; Liang, H. *Acta Chim. Sinica* **2000**, *58*, 229 (in Chinese). (徐楚桥, 张宏志, 梁宏, 化学学报, **2000**, *58*, 229.)
- Aida, C. P.; Marta, L. A.; Camillo, L. M. *J. Therm. Anal. Calor.* **2004**, *77*, 69.
- Bai, G.; Wang, Y.; Yan, H. K. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 2153.
- Saboury, A. A. *J. Chem. Thermodyn.* **2003**, *35*, 1975.
- Nielsen, A. D.; Borch, K.; Westh, P. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1479*, 321.
- Lin, L. N.; Mason, A. B.; Woodworth, R. C.; Brandts, J. F. *Biochemistry* **1991**, *30*, 11660.
- Wiseman, T.; Wiliston, S.; Brandts, J. F.; Lin, L. N. *Anal. Biochem.* **1989**, *179*, 131.
- Nielsen, A. D.; Fuglsang, C. C.; Westh, P. *Anal. Biochem.* **2003**, *314*, 227.
- Wang, Z.-X. *FEBS Lett.* **1995**, *360*, 111.
- Wang, Z.-X.; Jiang, R.-F. *FEBS Lett.* **1996**, *392*, 245.
- Su, Z.; Qin, C.; Xie, M.-X.; Li, J.-D.; Wang, Y.-D. *Acta Chim. Sinica* **2007**, *65*, 329 (in Chinese). (苏忠, 秦川, 谢孟峡, 李建东, 王英典, 化学学报, **2007**, *65*, 329.)
- Wang, J.-Y.; Zhu, S.-G.; Xu, C.-F. *Biochemistry*, Higher Education Press, Beijing, **2002**, p. 202 (in Chinese). (王镜岩, 朱圣庚, 徐长法, 生物化学, 高等教育出版社, 北京, **2002**, p. 202.)
- Hu, X.-B.; Li, H.-R.; Liang, W.-C.; Han, S.-J. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2005**, *21*, 952 (in Chinese). (胡兴邦, 李浩然, 梁婉春, 韩世钧, 物理化学学报, **2005**, *21*, 952.)
- He, X. M.; Carter, D. C. *Nature* **1992**, *358*, 209.
- Li, L.-W.; Chu, D.-Y.; Liu, R.-L. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **1999**, *15*, 267 (in Chinese). (李林尉, 褚德莹, 刘瑞麟, 物理化学学报, **1999**, *15*, 267.)
- Ross, P. D.; Subramanian, S. *Biochemistry* **1981**, *20*, 3096.

(A0610083 YANG, X.; FAN, Y. Y.)