

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.09.005

· 基础研究 ·

新型磺化酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物的构建及其体外光动力抗肿瘤活性

廖丽芳¹, 黄宗雄², 邱红鑫¹, 郑月平¹, 郑碧远³ (1. 闽西职业技术学院医学 护理学院, 福建 龙岩 364200; 2. 福建省纤维检验中心, 福建 福州 350026; 3. 福州大学 化学学院, 福建 福州 350116)

[摘要] **目的:** 探究新型 α -位四取代磺化酞菁锌 (ZnPcX6) 与牛血清白蛋白 (BSA)、人血清白蛋白 (HSA) 的相互作用, 制备 ZnPcX6-白蛋白复合物, 并评估复合物对酞菁聚集状态的改善效果及其体外光动力抗肿瘤活性。**方法:** 采用荧光光谱法、紫外-可见吸收光谱法检测 ZnPcX6 与 BSA、HSA 的相互作用并计算其结合常数与表观结合位点数; 通过温育交换法制备 ZnPcX6-白蛋白非共价复合物, 利用凝胶排阻层析完成分离纯化并表征复合物光谱特征; 采用 MTT 法评价 ZnPcX6-BSA 对 HepG2 肝癌细胞的体外光动力抗肿瘤活性, 通过激光共聚焦显微镜观察 HepG2 细胞对 ZnPcX6-白蛋白的摄取行为。**结果:** ZnPcX6 与 BSA 的结合位点数为 1.007, 结合常数为 8.41×10^5 L/mol; 与 HSA 的结合作用更强, 结合位点数为 1.372, 结合常数为 1.14×10^8 L/mol, 两种体系中 ZnPcX6 与白蛋白的摩尔结合比均约为 1:1。光谱分析显示, 与游离 ZnPcX6 相比, ZnPcX6-白蛋白复合物中酞菁聚集态占比下降, 单体占比提升, Q 带最大吸收峰红移 3 nm, 复合物光谱性质得到改善。体外活性实验证实, ZnPcX6-BSA 复合物对 HepG2 肝癌细胞的光动力抗肿瘤活性高于游离 ZnPcX6; 其 IC_{50} 为 0.52 μ mol/L, 细胞摄取实验表明与白蛋白形成复合物后, HepG2 细胞对酞菁的摄取效率提高。**结论:** ZnPcX6 可与 BSA、HSA 以约 1:1 的摩尔比通过非共价结合形成复合物; 与白蛋白复合后, ZnPcX6 的聚集态占比下降; ZnPcX6-BSA 可提高 HepG2 肝癌细胞对 ZnPcX6 的摄取, 表现出更优的光动力抗肿瘤活性。

[关键词] 酞菁 ZnPcX6; 白蛋白; 酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物; 光动力抗肿瘤活性

[中图分类号] R730.5; TQ421.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2026)09-0968-07

Construction of a novel sulfonated phthalocyanine ZnPCX6-albumin complex and evaluation of its *in vitro* photodynamic antitumor activity

Liao Lifang¹, Huang Zongxiong², Qiu Hongxin¹, Zheng Yueping¹, Zheng Biyuan³ (1. School of Medical Nursing, Minxi Vocational and Technical College, Longyan 364200, Fujian, China; 2. Fujian Fiber Inspection Center, Fuzhou 350026, Fujian, China; 3. College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350116, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the interaction of the novel α -tetrasubstituted sulfonated zinc phthalocyanine (ZnPcX6) with bovine serum albumin (BSA) and human serum albumin (HSA), prepare ZnPcX6-albumin complexes, and evaluate their effects on phthalocyanine aggregation state as well as their *in vitro* photodynamic antitumor activity. **Methods:** Fluorescence spectroscopy and UV-visible absorption spectroscopy were used to investigate the interaction between ZnPcX6 and BSA as well as HSA, and the binding constants and apparent numbers of binding sites were calculated. Non-covalent ZnPcX6-albumin complexes were prepared using an incubation-exchange method, separated and purified by size-exclusion chromatography, and their spectral properties were further characterized. The *in vitro* photodynamic antitumor activity of ZnPcX6-BSA against HepG2 hepatocellular carcinoma cells was evaluated using the MTT assay. Cellular uptake of ZnPcX6-albumin complexes by HepG2 cells was observed using laser scanning confocal microscopy. **Results:** The apparent number of binding sites for ZnPcX6 to BSA was 1.007, with a binding constant of 8.41×10^5 L/mol. ZnPcX6 exhibited stronger binding to HSA, with a binding-site number of 1.372 and a binding constant of 1.14×10^8 L/mol. The molar binding ratio of ZnPcX6 to albumin was approximately 1:1 in both systems. Spectroscopic analysis revealed that compared with free ZnPcX6, complex formation inhibited the aggregation of phthalocyanine and increased the proportion of monomers, and the maximum absorption wavelength of the Q band was red-shifted by 3 nm, indicating improved spectral properties of the complexes. *In vitro* activity experiments showed that the ZnPcX6-BSA complex exhibited higher photodynamic cytotoxicity against HepG2 hepatocellular carcinoma cells than free ZnPcX6, with an IC_{50} value of 0.52 μ mol/L. Cellular uptake experiments showed that complexation with albumin enhanced the uptake of ZnPcX6 by HepG2 cells. **Conclusion:** ZnPcX6 can form non-covalent

[基金项目] 2025 年度闽西职业技术学院校级课题 (KJMY2501)

[作者简介] 廖丽芳 (1985—), 女, 硕士, 实验师

[通信作者] 郑碧远 (扫码获取作者通信方式)

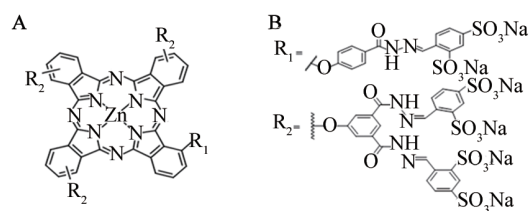


complexes with BSA and HSA at a molar ratio of approximately 1:1. Complexation with albumin can reduce the aggregation of ZnPcX6. ZnPcX6-BSA can enhance the cellular uptake of ZnPcX6 by HepG2 cells and exhibit improved *in vitro* photodynamic antitumor activity.

[Key words] phthalocyanine ZnPcX6; albumin; phthalocyanine ZnPcX6-albumin complex; photodynamic antitumor activity

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(9): 968-974. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.09.005]

据 GLOBOCAN 2022 统计数据,全球每年新发癌症病例近 2 000 万例,癌症死亡约 970 万例;受人口增长与老龄化影响,预测至 2050 年全球年新发癌症病例将增至约 3 500 万例,恶性肿瘤已成为全球公共卫生领域的重大挑战^[1]。光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)作为一种兼具靶向性与微创性的肿瘤治疗新技术,凭借其对肿瘤组织的精准杀伤能力,已在癌前病变、早期肿瘤及不可手术肿瘤的治疗中展现出广阔应用前景^[2-6]。酞菁类化合物因具备优异的光敏化性能、稳定的光化学特性,成为 PDT 领域极具潜力的光敏剂候选者,但该类化合物在生理环境中易聚集,对病变组织的选择性摄取率偏低,严重限制了其临床应用^[7-9]。血清白蛋白作为血浆中含量最丰富的载体蛋白,不仅能与多种药物分子形成稳定复合物,实现药物在体内的储存与靶向转运,还可通过肿瘤细胞表面高表达的白蛋白受体(如糖蛋白 60)介导主动转运,提升药物在肿瘤部位的富集程度^[10-13]。本研究团队前期新合成了一种 α -位取代、含 14 个磺酸基的四取代酞菁锌,结构式见图 1,后文统一命名为酞菁 ZnPcX6,该化合物具有良好的光敏化潜力^[14]。多项研究^[15-17]将酞菁类光敏剂与白蛋白进行复合修饰,同步改善其水溶性、抑制聚集并赋予其靶向功能。本研究通过荧光光谱、紫外-可见吸收光谱等技术系统分析酞菁 ZnPcX6 与牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)和人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)的结合常数及结合位点数,并通过紫外-可见吸收光谱分析白蛋白结合对 ZnPcX6 聚集状态及 Q 带吸收峰位置的影响,通过体外细胞实验验证其光动力抗肿瘤活性及细胞摄取效率,为新型靶向光敏剂的研发提供理论依据与实验证据。



A: 酞菁 ZnPcX6 的结构式; B: R_1 、 R_2 为取代基。

图 1 酞菁 ZnPcX6 的化学结构

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

酞菁 ZnPcX6 由本课题组前期合成,并经过核磁共振、质谱和元素分析等技术手段表征确定^[13]。人肝癌细胞 HepG2 购自中国科学院上海细胞库,BSA、HSA、Sephadex G-100 填料、PBS、RPMI 1640 及 Genview MTT 细胞增殖能力检测试剂均购自鼎国生物技术有限公司,N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide, DMF)购自上海国药集团。

UV-2450 型紫外-可见分光光度计购自日本 Shimadzu 公司,FS5 型荧光光谱仪购自英国爱丁堡仪器有限公司,DF-101S 型磁力搅拌器购自常州市金坛友联仪器公司,FDU-2200 型冷冻干燥机购自日本 EYELA 公司,SKY-200B 型恒温振荡器购自广州瑞丰实验设备公司,SPE 型激光扫描共聚焦显微镜购自德国 Leica 公司,Infinite f50 型酶标仪购自瑞士帝肯公司。

1.2 荧光光谱法检测 BSA、HSA 与酞菁 ZnPcX6 的相互作用

在 1 cm 的石英比色池中先加入 2.0 mL PBS,随后加入白蛋白溶液(BSA 或 HSA),使白蛋白浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$,先用 FS5 型荧光光谱仪检测上述溶液的荧光光谱,随后在上述溶液中滴加一定浓度的酞菁 ZnPcX6 溶液,使得酞菁 ZnPcX6 的浓度依次为 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、8.0 $\mu\text{mol/L}$,按照顺序测定混合溶液中白蛋白的荧光光谱。检测时以 280 nm 为激发波长,290~450 nm 为扫描范围。

根据相关研究报告^[18],酞菁与白蛋白混合溶液中的荧光猝灭为静态猝灭,并采用静态猝灭方程计算酞菁与白蛋白之间的结合常数。静态猝灭公式如下:

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_a + n \log [Q]$$

以上公式中, F_0 为未加入猝灭剂(即酞菁)时蛋白质的荧光强度, F 为加入猝灭剂后的蛋白质的荧光强度, K_a 为结合常数, n 为表观结合位点数, $[Q]$ 为猝灭剂(即酞菁)的浓度。通过拟合曲线的截距和斜率,分别计算出结合常数 K_a 和结合位点数 n 。所有实验均平行测定 3 次,取平均值。

1.3 紫外-可见吸收光谱法检测酞菁 ZnPcX6 与 BSA、HSA 的相互作用

在 1 cm 的石英比色池中先加入 2.0 mL PBS,随后加入酞菁 ZnPcX6 溶液,使得酞菁 ZnPcX6 的浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 。测定此溶液的紫外-可见吸收光谱,随后滴加白蛋白溶液,使体系中白蛋白的浓度分别为

0.0、0.4、0.8、1.6、2.0、4.0、6.0、8.0 $\mu\text{mol/L}$, 按照顺序测定溶液中酞菁的吸光度。

1.4 温育交换法制备酞菁-白蛋白复合物以及计算复合物摩尔组成比

参照文献[19]的实验方案, 采用温育交换法制备酞菁 ZnPcX6 与白蛋白(BSA 和 HSA)的复合物, 过程如下: 用分析天平精确称取酞菁 ZnPcX6 和白蛋白, 按酞菁 ZnPcX6 与白蛋白物质的量之比为 10:1 配制, 溶解于 2.5 mL PBS 中。而后将溶液置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温振荡器中振荡 24 h。采用葡聚糖凝胶排阻层析法对反应体系进行分离纯化, 以 PBS 为流动相。洗脱过程通过紫外-可见吸收光谱法对各洗脱组分进行监测, 并以 0.5 mL/管分段收集洗脱液。最终收集同时具有酞菁特征吸收峰与白蛋白特征信号的洗脱组分, 所得绿色组分即为 ZnPcX6-白蛋白复合物。

复合物中的白蛋白含量通过荧光光谱法测定; 酞菁 ZnPcX6 的含量则利用紫外-可见吸收光谱法测定。取一定量复合物以 DMF 稀释, 测定 ZnPcX6 在 Q 带最大吸收波长处的吸光度, 并根据其摩尔消光系数计算酞菁 ZnPcX6 浓度。结合测得的白蛋白含量, 计算酞菁 ZnPcX6 与白蛋白的摩尔组成比。本研究所有涉及 ZnPcX6-BSA 复合物的浓度均以 ZnPcX6 的浓度表示, 复合物中酞菁 ZnPcX6 的结合率 $\geq 90\%$ 。

1.5 MTT 法检测酞菁 ZnPcX6 和复合物 ZnPcX6-BSA 对 HepG2 细胞的体外光动力细胞毒性

复合物 ZnPcX6-BSA 溶解于 PBS 中, 配制成药 80 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液, 经 0.22 μm 无菌滤膜过滤; 先用 DMF 溶解酞菁 ZnPcX6, 配成 1.0 mmol/L 的母液, 再用 PBS 稀释至 80 $\mu\text{mol/L}$ 。酞菁 ZnPcX6 和复合物 ZnPcX6-BSA 均使用 RPMI 1640 培养基稀释至所需浓度。

取对数生长期的 HepG2 细胞接种于 96 孔板中 (3×10^4 个/孔), 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 的培养箱中常规培养过夜。弃去旧培养基, 分别加入含不同浓度酞菁 ZnPcX6 或复合物 ZnPcX6-BSA 的培养基, 同时设置未加药对照组, 培养 2 h 后, 无菌 PBS 清洗 1 次, 洗掉细胞外的光敏药物, 随后加入新鲜 RPMI 1640 完全培养基。光照组采用 $\lambda \geq 610 \text{ nm}$ 的红光照射 30 min, 光功率密度为 15 mW/cm^2 。

光照结束后培养 24 h, 每孔中加入 20 μL 2.5 mg/mL 的 MTT 溶液, 继续培养 4 h。弃去培养基, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡均匀后采用多功能酶标仪测量每个孔在 490 nm 处光密度 (D) 值, 药物对癌细胞的抑制率按照下式计算:

抑制率 = $(1 - \text{实验组平均 } D \text{ 值} / \text{对照组平均 } D \text{ 值}) \times 100\%$

暗毒性实验的处理条件与上述光动力细胞毒性实验相同, 但药物处理后全程避光, 不进行红光照射。

所有实验均设置 6 个平行孔, 独立重复 3 次, 取平均值并计算标准偏差。

1.6 激光扫描共聚焦显微镜下观察 HepG2 细胞摄取酞菁 ZnPcX6 及其复合物 ZnPcX6-BSA 的能力

将 HepG2 细胞接种于共聚焦培养板 (3×10^5 个细胞/共聚焦皿) 常规培养过夜后, 更换为含 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 药物(酞菁 ZnPcX6 或 ZnPcX6-BSA 复合物)的培养基继续培养 2 h, 用 PBS 洗去细胞残留药物后使用激光扫描共聚焦显微镜拍照观察。拍照时用 635 nm 激光激发, 收集 650~750 nm 处的荧光(所得荧光图像采用统一参数进行伪彩色处理), 最后用 SPE ROI 荧光分析程序进行分析, 统计每个样品中的 20 个细胞的平均荧光强度。

1.7 统计学处理

数据处理与作图采用 OriginPro 7.5 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间数据采用 Student's t 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。所有细胞实验均独立重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 酞菁 ZnPcX6 对 BSA 和 HSA 有较强的猝灭作用

固定白蛋白浓度, 逐步滴加酞菁 ZnPcX6, 记录体系荧光光谱变化, 结果(图 2A、C)显示, 随着酞菁 ZnPcX6 浓度不断升高, BSA、HSA 位于 340 nm 处的蛋白特征荧光强度均呈规律性下降, 同时蛋白最大发射波长发生红移。荧光强度衰减与发射峰位置偏移共同表明, 酞菁 ZnPcX6 可分别与 BSA、HSA 发生相互作用, 对两种血清白蛋白均产生明显的荧光猝灭效应。

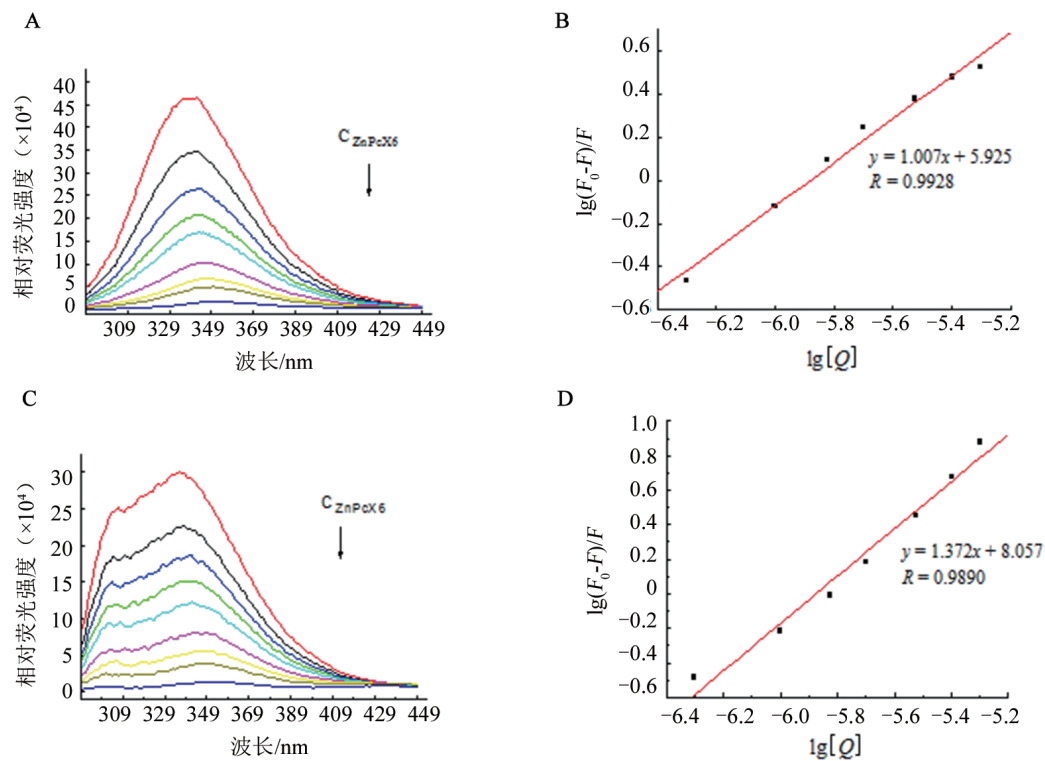
基于静态猝灭模型, 采用双对数方程对 ZnPcX6 与 BSA 和 HSA 的荧光滴定数据进行拟合, 结果(图 2B、D)显示, 酞菁 ZnPcX6 与 BSA 体系的表现结合位点数 n 为 1.007, 结合常数 K_a 为 $8.41 \times 10^5 \text{ L/mol}$; 酞菁 ZnPcX6 与 HSA 体系的 n 为 1.372, K_a 为 $1.14 \times 10^8 \text{ L/mol}$ 。与 BSA 相比, ZnPcX6 与 HSA 的结合常数更高, 说明酞菁 ZnPcX6 对 HSA 具有较强的结合亲和力。两种体系的表现结合位点数均约为 1, 提示 ZnPcX6 与 BSA 和 HSA 的相互作用均以单一结合位点为主。

2.2 白蛋白对酞菁 ZnPcX6 聚集状态及紫外-可见吸收光谱的影响

固定酞菁 ZnPcX6 浓度, 逐步滴加 BSA 或 HSA, 记录紫外-可见吸收光谱变化, 结果(图 3A、C)显示, PBS 体系中的游离酞菁 ZnPcX6 同时存在聚集态吸收峰(650

nm)与单体Q带吸收峰(约690 nm)^[10,16]。随着BSA或HSA浓度增加,650 nm附近聚集体的吸收强度逐步减弱,而单体吸收峰强度不断增强,表明白蛋白可与酞菁ZnPcX6发生相互作用,并在一定程度上抑制酞菁ZnPcX6

分子间 π - π 堆积,降低其聚集程度,从而提高单体态ZnPcX6的相对比例。加入BSA后,酞菁ZnPcX6单体吸收峰由688 nm红移至694 nm;加入HSA后,单体吸收峰由688 nm红移至696 nm。



A:BSA 的荧光光谱;B:BSA 荧光猝灭曲线图;C:HSA 的荧光光谱;D:HSA 荧光猝灭曲线图。C_{BSA}/C_{HSA} = 2.0 μmol/L, C_{ZnPcX6} = 0.0, 0.5,1.0,1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0,8.0 μmol/L,激发波长为280 nm,n = 3。

图2 酞菁 ZnPcX6 滴定 BSA、HSA 的荧光光谱及荧光猝灭曲线图

随 C_{BSA}/C_{ZnPcX6} 或 C_{HSA}/C_{ZnPcX6} 的增加,ZnPcX6 单体Q带吸光度逐渐升高,并在浓度比接近1时趋于平台;继续增大白蛋白浓度,吸光度仅有小幅提升。该结果表明,当白蛋白与ZnPcX6的摩尔比接近1:1时,两者的相互作用已基本趋于饱和(图3B、D)。结合前述荧光猝灭实验所得表观结合位点数接近1的结果,提示ZnPcX6与BSA和HSA均可能以单一结合位点相互作用。

2.3 酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物的凝胶排阻色谱分离

温育交换法制备酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物,采用葡聚糖凝胶排阻层析对ZnPcX6-BSA和ZnPcX6-HSA复合体系进行分离纯化,结果(图4)显示,ZnPcX6-BSA体系与ZnPcX6-HSA体系呈现相同的洗脱行为,即在2~5.5 mL范围内同时检测到白蛋白的特征荧光信号和ZnPcX6的特征吸收信号,且两种信号的洗脱峰具有较好的重叠,表明酞菁 ZnPcX6与白蛋白在该洗脱区间发生共洗脱,支持ZnPcX6-BSA或ZnPcX6-HSA复合物的形成。因此,合并该区间洗脱组分用于后续实验。

2.4 酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物的组成及紫外-可见吸收光谱特性

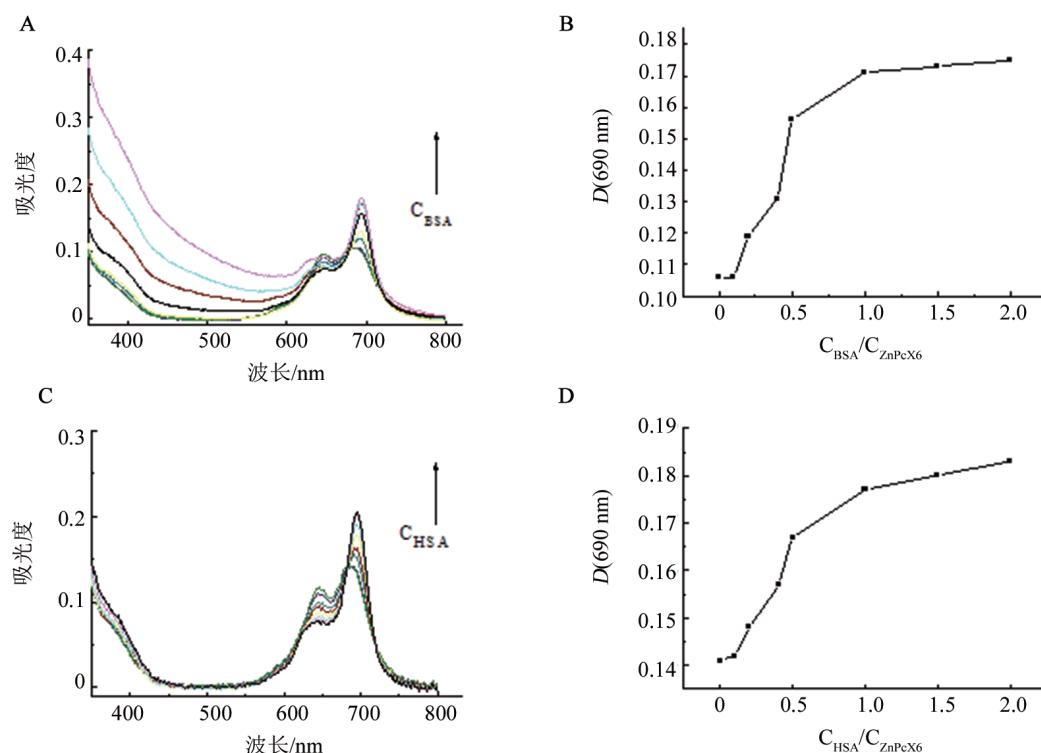
图5为酞菁 ZnPcX6、酞菁 ZnPcX6-BSA复合物和酞菁 ZnPcX6-HSA复合物在PBS溶液中的吸收光谱图。由图5可知,与酞菁 ZnPcX6相比,酞菁 ZnPcX6-BSA复合物和酞菁 ZnPcX6-HSA复合物在约690 nm处的Q带吸收峰明显增强,峰形更为锐利,表明酞菁在复合物中的主要存在形式为单体,且白蛋白的结合一定程度上抑制了酞菁 ZnPcX6的聚集。此外,酞菁 ZnPcX6最大吸收波长为690 nm,两种酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物的最大吸收波长为693 nm,表现出轻微红移。在相同ZnPcX6浓度下,两种复合物在约693 nm处的吸光度接近,说明其Q带吸收强度总体相当。

2.5 酞菁 ZnPcX6和ZnPcX6-BSA的体外光动力抗肿瘤活性

在避光条件下,酞菁 ZnPcX6和ZnPcX6-BSA复合物处理后,HepG2细胞存活率均维持在较高水平,没有观察到明显的暗毒性。经红光照射后,酞菁

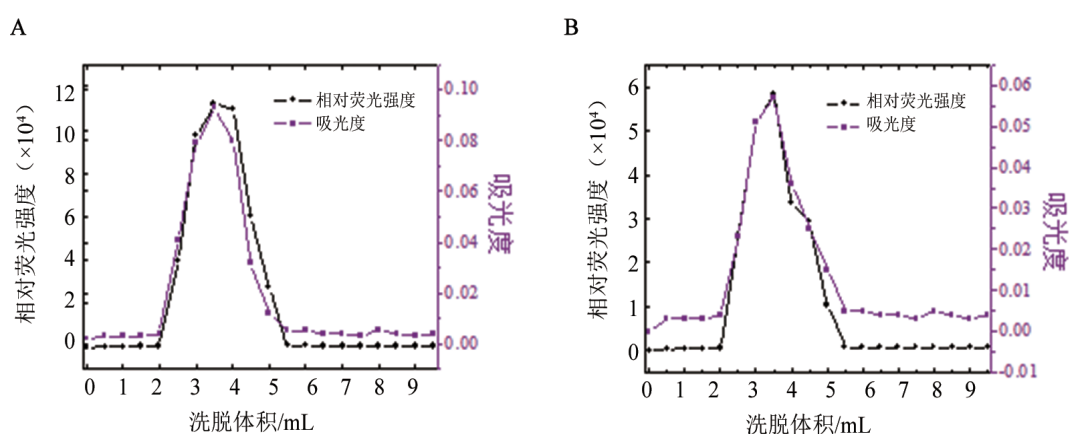
ZnPcX6和ZnPcX6-BSA均导致HepG2细胞存活率下降,并呈现明显的浓度依赖性。以ZnPcX6计,ZnPcX6-BSA和酞菁ZnPcX6的 IC_{50} 分别为0.52

$\mu\text{mol/L}$ 和0.85 $\mu\text{mol/L}$ 。ZnPcX6-BSA复合物的 IC_{50} 低于游离ZnPcX6,提示与BSA形成复合物后,ZnPcX6对HepG2细胞的光动力细胞毒性有所增强。



A:BSA滴定ZnPcX6的紫外-可见吸收光谱;B: $C_{\text{BSA}}/C_{\text{ZnPcX6}}$ 上升时酞菁ZnPcX6的最大吸光度变化;C:HSA滴定ZnPcX6的紫外-可见吸收光谱;D: $C_{\text{HSA}}/C_{\text{ZnPcX6}}$ 上升时酞菁ZnPcX6的最大吸光度变化。 $C_{\text{ZnPcX6}}=2.0 \mu\text{mol/L}$, $C_{\text{BSA}}, C_{\text{HSA}}=0, 0.4, 0.8, 1.6, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 \mu\text{mol/L}$, $n=3$ 。

图3 白蛋白对ZnPcX6紫外-可见吸收光谱的影响

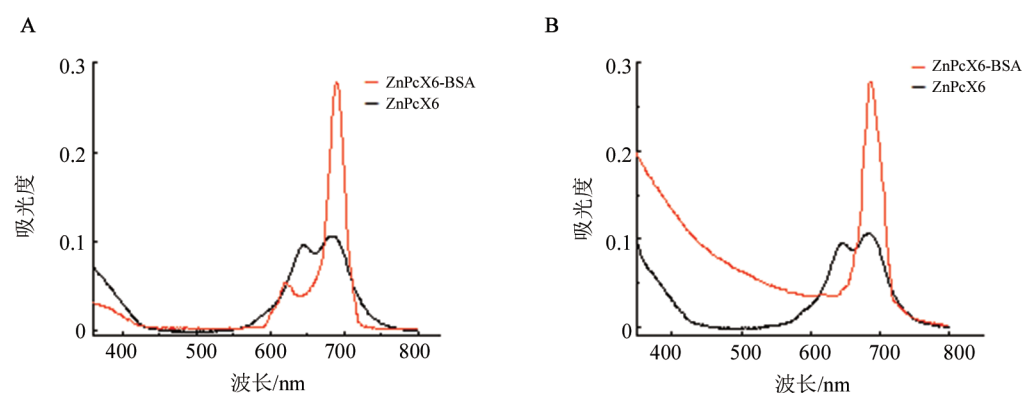


A:ZnPcX6-BSA复合物的洗脱曲线;B:ZnPcX6-HSA复合物的洗脱曲线。ZnPcX6在696 nm处检测吸光度,白蛋白荧光检测时激发波长为280 nm,检测在340 nm处的荧光强度, $n=3$ 。

图4 复合物ZnPcX6-BSA(A)及ZnPcX6-HSA(B)分离洗脱曲线图

2.6 HepG2细胞对ZnPcX6-BSA复合物的细胞摄取
激光扫描共聚焦显微镜观察HepG2细胞对酞菁ZnPcX6及ZnPcX6-BSA复合物的细胞摄取情况,结

果(图7)显示,ZnPcX6-BSA复合物在细胞内的荧光强度强于ZnPcX6,即ZnPcX6-BSA复合物被HepG2细胞摄取的能力明显高于游离的酞菁ZnPcX6。



A: 酞菁 ZnPcX6 和复合物 ZnPcX6-BSA 的吸收光谱; B: 酞菁 ZnPcX6 和复合物 ZnPcX6-HSA 的吸收光谱。酞菁 ZnPcX6、酞菁 ZnPcX6-BSA 复合物和酞菁 ZnPcX6-HSA 复合物浓度为 $2.0 \mu\text{mol/L}$ 。 $n = 3$ 。

图5 酞菁 ZnPcX6-白蛋白复合物的紫外-可见吸收光谱特性

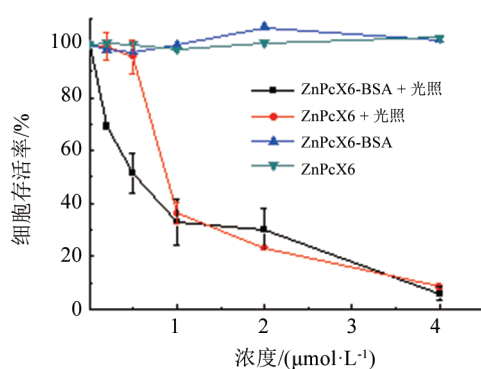
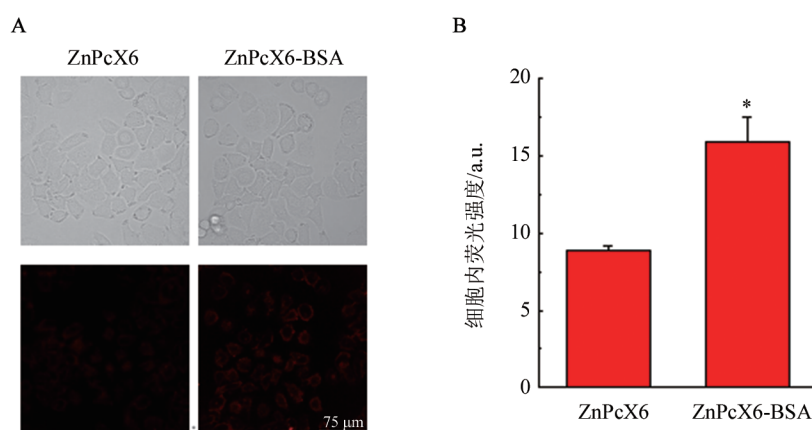


图6 酞菁 ZnPcX6 和 ZnPcX6-BSA 复合物对 HepG2 细胞的毒性

3 讨论

本研究利用光谱手段探究酞菁 ZnPcX6 与 BSA、HSA 的相互作用, 制备得到酞菁 ZnPcX6-白蛋白非共价复合物。结果表明酞菁 ZnPcX6 可与 BSA、HSA 发生结合, 表观结合位点数均接近 1, 摩尔结合比约为 1:1。与游离酞菁 ZnPcX6 相比, 白蛋白复合物中酞菁 ZnPcX6 聚集程度降低, 单体比例增加, 并伴随 Q 带最大吸收峰发生红移。体外细胞实验显示, ZnPcX6-BSA 对 HepG2 细胞的体外光动力抗肿瘤活性优于游离酞菁 ZnPcX6, 共聚焦成像结果亦显示复合物处理组细胞内具有较高的 ZnPcX6 荧光信号。



A: 酞菁 ZnPcX6 和 ZnPcX6-BSA ($2.0 \mu\text{mol/L}$) 与 HepG2 细胞共培养 2 h 后的荧光图像和明场图像, 标尺为 $75 \mu\text{m}$; B: 20 个 HepG2 细胞内酞菁 ZnPcX6 和 ZnPcX6-BSA 的平均荧光强度。与 ZnPcX6 组相比, $^*P < 0.05$ 。

图7 HepG2 细胞对 ZnPcX6-BSA 复合物的细胞摄取

酞菁分子易因 π - π 堆积发生聚集, 而聚集通常会引起激发态能量耗散, 从而影响其作为光敏剂的光化学活性。本研究发现, 与白蛋白形成非共价复合物能够降低酞菁 ZnPcX6 的分子聚集, 提高单体占比, 同时 Q 带红移有利于对激发光的吸收, 为发挥光

敏效应提供有利的光谱基础^[10-11]。本研究测得酞菁 ZnPcX6 与 HSA 的结合常数高于其与 BSA 的结合常数, 反映两种白蛋白与该酞菁的结合能力存在差异, 这与已报道的白蛋白-酞菁相互作用的蛋白种属差异特征相近^[10,16], 也提示人源白蛋白在后续应用研究中

值得重点关注。

实验观察到复合物细胞摄取水平提升与光动力活性增强的现象共存,但二者仅为相关性,尚不能确定因果关系。与白蛋白结合可改善光敏剂在介质中的分散状态,减少聚集沉淀,这可能有利于更多光敏单体被细胞摄入。已有文献^[20]提及肿瘤细胞存在白蛋白相关转运蛋白,但本研究未开展受体阻断等验证实验,该途径仅为潜在假说,缺乏直接实验证据。胞内光敏分子水平提升,有利于光照下发挥光动力杀伤效应,该趋势也与多数酞菁-白蛋白复合体系的研究结果相一致^[16]。

本研究仍存在若干不足:所有活性评价仅限于体外细胞实验,缺少体内数据;尚未测定ROS及单线态氧生成能力,未能完整阐明活性提升的分子机制;仅完成ZnPcX6-HSA复合物的制备与光谱表征,其细胞摄取与光动力活性尚未系统评价;细胞入胞途径未得到实验确证,尚不能证实复合物具有肿瘤靶向作用。

综上,本研究证实白蛋白非共价复合策略可有效改善酞菁ZnPcX6在生理模拟溶液中的聚集行为与光谱性质,BSA复合形式在体外条件下可以提升光敏剂在肝癌细胞中的胞内富集,并表现出更好的体外光动力抗肿瘤活性,为磺化酞菁类光敏剂的蛋白载体改性提供实验参考。后续将补充溶液与细胞水平的ROS/单线态氧测定、完善ZnPcX6-HSA复合物的体外活性评价,并可开展受体阻断等实验探索药物进入细胞的途径;条件允许下将进一步推进体内抗肿瘤研究,以更全面地评估该类酞菁-白蛋白复合物向PDT应用转化的可行性。

[参 考 文 献]

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3):229-263. DOI:10.3322/caac.21834.
- [2] 叶觉鲜. 聚鸟氨酸接枝酞菁的聚乙二醇修饰及其体外光动力抗癌活性[D]. 汕头:汕头大学, 2024.
- [3] Zheng B Y, Li S Z, Zheng B D, et al. Phthalocyanine-based photosensitizers combined with anti-PD-L1 for highly efficient photodynamic immunotherapy[J]. Dyes Pigm, 2021, 185: 108907. DOI:10.1016/j.dyepig.2020.108907.
- [4] 林斌, 黄剑东, 柯美荣. 羧基单取代酞菁锌的合成与光动力抗癌活性[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2020, 32(3):235-240.
- [5] 沈小敏. 轴向核昔修饰硅酞菁的合成与光动力活性[J]. 化学工程师, 2024, 38(3):6-10.
- [6] 罗亚东, 丁旭, 杜洪明, 等. 四取代羧酸酞菁锌光动力诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡[J]. 口腔医学, 2019, 39(4):289-295.
- [7] Zheng B Y, Wang L, Hu Q Y, et al. Novel unsymmetrical silicon(IV) phthalocyanines as highly potent anticancer photosensitizers. Synthesis, characterization, and *in vitro* photodynamic activities[J]. Dyes Pigm, 2020, 177:108286. DOI:10.1016/j.dyepig.2020.108286.
- [8] 卢小鸾, 张荣, 杨培昕, 等. 纳米载体包载酞菁及其衍生物用于光动力抗癌的研究进展[J]. 化学研究与应用, 2020, 32(3):341-350.
- [9] Fan P P, Li S L, Zheng B Y, et al. Synthesis and photothermal/photodynamic antimicrobial activities of phthalocyanines tetra-substituted by morpholinyl moieties[J]. Dyes Pigm, 2023, 212: 111122. DOI:10.1016/j.dyepig.2023.111122.
- [10] 张丽娟. 磺化酞菁与人血清白蛋白复合物的光动力活性研究[J]. 化学研究与应用, 2022, 34(2):233-239.
- [11] 卢小鸾. 纳米胶束复合水凝胶包载酞菁用于光动力抗癌的研究[D]. 贵阳:贵州大学, 2020.
- [12] 王栋鑫. 基于协同增效及线粒体靶向酞菁光敏剂合成与抗癌活性研究[D]. 南京:南京师范大学, 2022.
- [13] 张丽娟. 水溶性酞菁作为抗癌光敏剂的研究进展[J]. 山东化工, 2023, 52(23):151-153,156.
- [14] 郑秉得. 高亲水性酞菁锌的合成、自组装和抗癌/抗菌活性研究[D]. 福州:福州大学, 2020.
- [15] 李潇, 杨敏, 彭黔荣. 光敏剂应用于光动力治疗的研究进展[J]. 化学研究, 2025, 36(2): 168-179. DOI:10.14002/j.hxya.2025.02.010.
- [16] Gorbacheva V I, Syrocheva A O, Kolesova E P. Albumin-phthalocyanine nanoconjugates as platforms for enhanced photodynamic cancer therapy[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(23):11559. DOI:10.3390/ijms262311559.
- [17] Li Z R, Qin C, Yang X Y, et al. Phthalocyanine and photodynamic therapy relieve albumin paclitaxel and gemcitabine chemoresistance in pancreatic cancer[J]. Exp Cell Res, 2025, 446(1):114455. DOI:10.1016/j.yexcr.2025.114455.
- [18] Liu Y, Xie M X, Jiang M, et al. Spectroscopic investigation of the interaction between human serum albumin and three organic acids [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2005, 61(9): 2245-2251. DOI:10.1016/j.saa.2004.09.004.
- [19] 段思程, 曹洪坤, 张默涵, 等. Zn(II)酞菁配合物-血清白蛋白杂化酶的合成及其性质的研究[J]. 化工技术与开发, 2025, 54(6): 1-7.
- [20] Jamil A, Zahid A, Khan R A, et al. Aluminum phthalocyanine chloride loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles based photodynamic therapy for antibacterial and anticancer applications[J]. J Biotechnol, 2026, 410: 309-320. DOI:10.1016/j.jbiotec.2025.12.014.

[收稿日期] 2026-03-21

[修回日期] 2026-08-24

[本文编辑] 邢一凡