

白蛋白对单取代酞菁锌光谱性质和存在状态的影响

肖荣平, 张娜, 黄剑东*, 张汉辉*

福州大学化学化工学院, 福建 福州 350108

摘要 研究了单取代酞菁锌(1-[4-(2-羧基乙基)苯氧基]酞菁锌, 即 ZnPcC_1) 与白蛋白(人血清白蛋白 HSA 和牛血清白蛋白 BSA) 的共价和非共价结合作用, 进而研究了结合方式对 ZnPcC_1 的光谱性质和存在状态的影响。结果表明, ZnPcC_1 可以通过成酰胺键的方式与白蛋白构成共价结合物(摩尔组成比大约为 7:1); ZnPcC_1 与白蛋白之间存在较强的非共价相互作用, 结合常数大约为 $1.0 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$ 。结合位点竞争实验表明, 非共价相互作用的结合位点位于人血清白蛋白的亚域 I B。 ZnPcC_1 与白蛋白结合后, 无论是共价结合还是非共价结合, 均展现出比游离酞菁更明显的单体特征吸收, 这是一个有利于光动力治疗的性质。共价结合导致 ZnPcC_1 的单体特征吸收峰红移约 5 nm, 而非共价结合则没有导致红移。

关键词 酞菁; 白蛋白; 结合; 光谱性质; 光敏剂

中图分类号: O644 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)04-1052-05

引言

酞菁衍生物不仅仅是一类传统的染料, 而且是一类重要的功能化合物, 在多个高新技术领域获得实际应用或显示了诱人的应用前景^[1,2]。近年来, 酞菁衍生物作为抗癌光敏剂应用于肿瘤的光动力治疗的研究十分活跃^[3,4]。已有的构效关系研究表明, 取代基的类型、数目和中心离子的特点对酞菁化合物的光动力活性有明显的影响, 不对称的单取代酞菁锌因显示出高的细胞摄取率和活性氧产率而备受瞩目^[4-8]。但是, 目前还缺乏对这类酞菁锌与白蛋白相互作用的研究。水溶性的白蛋白是血液中的主要蛋白, 也是主要的药物运载蛋白, 研究白蛋白与光敏剂的相互作用、了解白蛋白对光敏剂性质的影响, 对于深入探讨抗癌光敏剂的作用机理、提高光敏剂的光敏活性和靶向性具有重要的意义^[9-11]。酞菁化合物与白蛋白的相互作用, 已有文献报道, 但关注的是对称的多取代酞菁与白蛋白的非共价相互作用^[10-15]。本文在间二羧基苯氧基取代酞菁锌与白蛋白共价结合物的合成与光谱性质研究的基础上, 拓展以一种新的不对称单取代酞菁锌, 即 1-[4-(2-羧基乙基)苯氧基]酞菁锌(简称 ZnPcC_1 , 结构如图 1 所示)为研究对象, 考察其与白蛋白之间的非共价和共价结合, 并着重探讨在不同的结合方式下, 白蛋白对单取代酞菁

的光谱性质和存在状态的影响, 期望为这类光敏剂的优化和实际应用提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

T6 紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; FL900/FS920 型稳态与瞬态荧光光谱仪, 英国 Edinburgh 公司; 冷冻离心机, Thermo Scientific 公司; PB-20 型 pH 计, 北京赛多利斯仪器系统有限公司。

N,N'-二环己基碳二亚胺(dicyclohexylcarbodiimide, DCC), 96% (w), 中国医药集团上海化学试剂公司产品; N-羧基琥珀酰亚胺(N-Hydroxysuccinimide, NHS), 98% (w), Alfa 公司产品; 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA), 中国医药集团上海化学试剂公司产品, 生化试剂级; 人血清白蛋白(human serum albumin, HSA), Sigma 公司产品, 生化试剂级; 氯化血红素(Hemin), Alfa 公司产品; 水杨酸钠, 中国医药集团上海化学试剂公司产品; 布洛芬, 山东新华制药有限公司产品; 葡聚糖凝胶 Sephadex G-100, Sigma 公司产品; 考马斯亮蓝 G-250, Fluka 公司产品; 透析袋, 分子量范围 8000~12 000, 北京沃德塞斯生物公司产品; 1-[4-(2-羧基乙基)苯氧基]酞菁锌(ZnPcC_1), 为本课题组研制;

收稿日期: 2010-05-10, 修订日期: 2010-08-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(20872016), 福建省自然科学基金项目(C0710033)和福建省高等学校新世纪优秀人才计划项目(XS.JRC2007-18)资助

作者简介: 肖荣平, 1982 年生, 福州大学化学化工学院博士研究生 e-mail: rpxiao8@yahoo.com.cn

* 通讯联系人 e-mail: jdhuan@fzu.edu.cn; hhzhang@fzu.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

所用溶剂为中国医药集团上海化学试剂公司分析纯产品。

1.2 酞菁-白蛋白共价结合物的制备

将 4.8 mg 1-[4-(2-羧基乙基)苯氧基]酞菁锌(即 ZnPcC_1) 和 2.5 mg 的 $\text{N,N}'$ -二环己基碳二亚胺(DCC)溶解于 1 mL 的 $\text{N,N}'$ -二甲基甲酰胺中,避光搅拌约 2 h 后,加入 1.5 mg 的 N -羟基琥珀酰亚胺(NHS),连续避光搅拌反应 4 h,得到 ZnPcC_1 的 N -琥珀酰亚胺酯衍生物。称取 40.3 mg 牛血清白蛋白(BSA)溶解到 4 mL 的磷酸盐缓冲液中,在冰水浴中充分搅拌使之混合均匀。之后将上述得到的 ZnPcC_1 的 N -琥珀酰亚胺酯衍生物溶液缓慢地滴加到此 BSA 溶液中,在冰水浴中持续搅拌,避光反应过夜。

6 °C 下离心除去不溶的沉淀物,移取上层溶液过凝胶色谱柱(Sephadex G-100),用磷酸盐缓冲溶液洗脱分离,收集第一蓝色洗脱带。将收集液装入透析袋中用双蒸水于 6 °C 下透析 2 d(每 12 h 换一次水),经冷冻干燥后得到 ZnPcC_1 -BSA 共价结合物。

以 HSA 替代上述方案中的 BSA,获得相应的 ZnPcC_1 -HSA 共价结合物。

1.3 ZnPcC_1 -Albumin 共价结合物的摩尔组成比的测定

共价结合物中白蛋白的含量用考马斯亮蓝法(简称 CBB 法)测定^[16]。酞菁配合物的含量则通过电子吸收光谱法测定:将共价结合物稀释到 DMF 溶液中,通过测量 Q 带最大吸收峰的吸光度来计算酞菁的含量, ZnPcC_1 在 DMF 中的摩尔吸光系数为 $1.52 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (675 nm)。

1.4 ZnPcC_1 与白蛋白非共价相互作用的结合常数和结合位点数的测定

室温 25 °C 下,移取 2.0 mL 蛋白质($2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 Tris-HCl 缓冲溶液(浓度为 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.4, 内含 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl 以维持离子强度)至 1 cm 石英比色池中,逐次滴加 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZnPcC_1 的 DMF 溶液(累加体积小于 0.2 mL,以减少体积变化引起的影响),测定体系在

290~450 nm 之间的白蛋白特征荧光光谱(激发波长为 280 nm)。

考察 ZnPcC_1 对白蛋白内源荧光的影响。根据文献方法^[17],如果 ZnPcC_1 的浓度与 BSA 特征荧光强度满足下式,可以得出 ZnPcC_1 与蛋白质的结合常数(K_A)和结合位点数(n)。

$$\lg \frac{F_0 - F}{F} = \lg K_A + n \lg c_Q \quad (1)$$

其中, F_0 为猝灭体(本文中即为酞菁 ZnPcC_1)不存在时蛋白的内源荧光强度, F 为加入猝灭体后的蛋白荧光强度, c_Q 为猝灭体的浓度。

1.5 电子吸收光谱和荧光光谱

室温 25 °C 下,以 PBS 缓冲溶液(pH 7.4)为参比,用稀释法配制 ZnPcC_1 及其共价结合物的 PBS 稀溶液,记录 300~800 nm 的电子吸收光谱。用逐步稀释法配制 ZnPcC_1 的 PBS 溶液($2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),滴加蛋白质的 PBS 溶液($500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),观察 ZnPcC_1 的 Q 带吸收变化情况。

室温 25 °C 下,测量 ZnPcC_1 在 630~800 nm 的荧光光谱(以 610 nm 为激发波长)。

2 结果与讨论

2.1 白蛋白与 ZnPcC_1 的共价结合

白蛋白含有自由氨基(HSA 和 BSA 分别含有 59 个和 61 个赖氨酸残基^[18,19],因此可提供 59 个和 61 个自由氨基),而 ZnPcC_1 含有羧基,因此本文通过羧基和氨基之间成酰胺键的方式来构建两者的共价结合物,所采取的合成路线如图 1 所示。这是一条常见的获得小分子与蛋白质大分子偶合物的制备路线^[20],其实质是通过 DCC 将 ZnPcC_1 的羧基活化,并用 NHS 将其进一步转化为活泼的琥珀酰亚胺酯中间体,进而与白蛋白上的氨基在温和条件下成键。

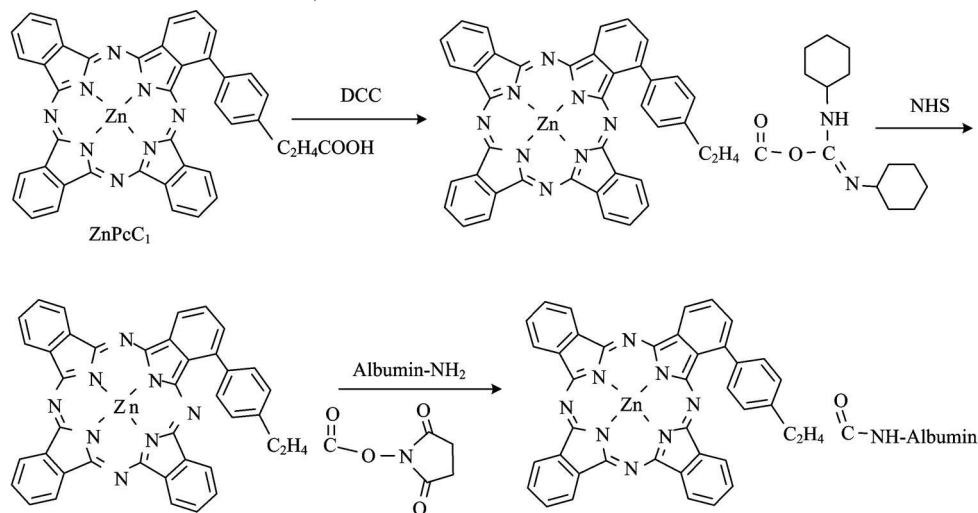


Fig 1 Synthesis of ZnPcC_1 -albumin conjugates

目标产物经凝胶色谱分离纯化后,通过电子吸收光谱法和考马斯亮蓝法进行表征和含量测定。结果表明,酞菁/白

蛋白的摩尔投料比为 10:1 时,所获得的共价结合物中酞菁/白蛋白的摩尔组成比为 7.7:1(ZnPcC_1 -BSA)和 6.8:1

(ZnPcC₇-HSA)。换言之，在一个白蛋白大分子上大约共价键合了 7 个 ZnPcC₁ 分子。

2.2 白蛋白与 ZnPcC₁ 的非共价结合

小分子与白蛋白大分子之间的非共价相互作用可以利用荧光分析法来考察^[13-15, 17]。

如图 2 所示，随着 ZnPcC₁ 的不断加入，白蛋白在 340 nm 附近的特征荧光逐渐被猝灭。图 3 给出了 ZnPcC₁ 猝灭 BSA 荧光的拟合曲线，ZnPcC₁ 的浓度与 BSA 的荧光降幅很好地符合式 1 的关系。类似地，ZnPcC₁ 对 HSA 的荧光猝灭也满足式 1 的关系。拟合结果列于表 1，从中可见，ZnPcC₁ 对 HSA 和 BSA 均存在较强的非共价相互作用，结合常数分别为 $1.25 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$ 和 $0.82 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$ ，结合位点数均为 1。

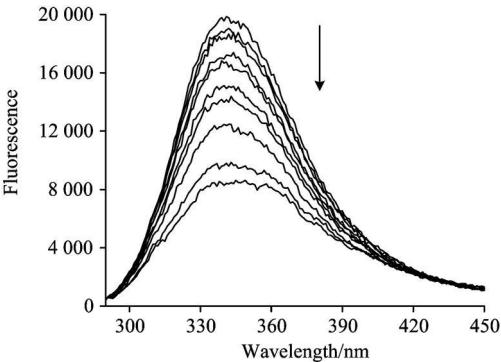


Fig 2 Change in fluorescence spectrum of BSA in Tris-HCl buffer upon titration with ZnPcC₁

$c_{\text{BSA}} = 2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; c_{ZnPcC_1} : 0, 0.55, 1.1, 1.65, 2.2, 3.3, 4.4, 5.5, 8.8, 11 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

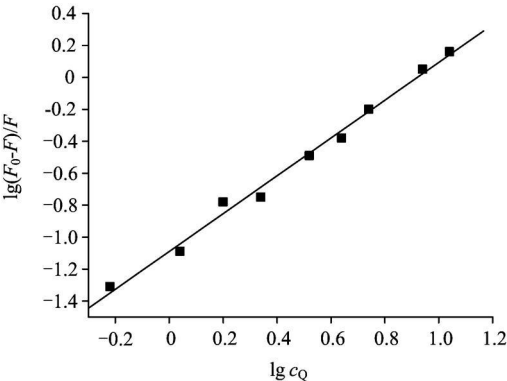


Fig 3 Fitting curve of BSA fluorescence quenching caused by ZnPcC₁

$c_{\text{BSA}} = 2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; c_{ZnPcC_1} : 0, 0.55, 1.1, 1.65, 2.2, 3.3, 4.4, 5.5, 8.8, 11 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 1 Parameters of phthalocyanine bound to albumins

Album in	Bind constants $K_A / (10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L})$	Binding sites (<i>n</i>)	Correlation coefficients
HSA	1.25	1.07	0.993 6
BSA	0.82	1.18	0.995 7

2.3 结合方式对 ZnPcC₁ 光谱性质和存在状态的影响

2.3.1 共价结合

如图 4 所示，ZnPcC₁ 在 DMF 溶剂中显示了典型的酞菁单体吸收光谱性质^[21]，强而尖锐的单体 Q 带最大吸收位于 675 nm 附近。相比较而言，在 PBS 溶液中，ZnPcC₁ 的单体吸收峰红移至 682 nm 附近，且吸收强度显著下降，同时在 632 nm 附近出现一个明显的吸收带。这样的光谱特征，表明 ZnPcC₁ 在 PBS 溶液中形成面对面聚集^[21]。

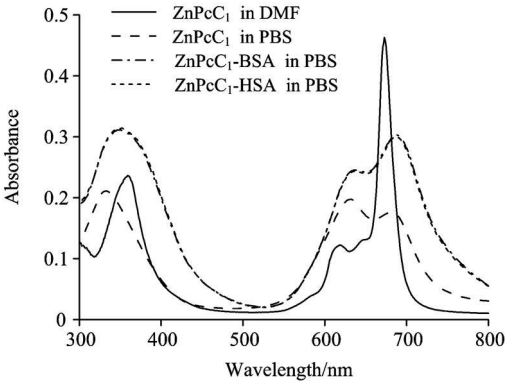


Fig 4 Electronic absorption spectra of ZnPcC₁ in DMF(3 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), ZnPcC₇-BSA and ZnPcC₇-HSA in PBS(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

共价结合物 ZnPcC₇-BSA 和 ZnPcC₇-HSA 具有良好的水溶性，本文比较了它们与 ZnPcC₁ 在 PBS 溶液(pH 7.4)中的电子吸收光谱的异同。图 4 显示，ZnPcC₁ 与白蛋白 BSA 共价结合后，其单体特征吸收峰红移至 687 nm 附近(红移了约 5 nm)，而聚集特征吸收峰红移至 637 nm 附近(红移了约 5 nm)，且单体吸收峰强度明显大于聚集吸收峰强度，说明共价键合在 BSA 上的酞菁，相比于游离酞菁，更不易发生聚集现象。ZnPcC₇-HSA 与 ZnPcC₇-BSA 在 PBS 溶液中的光谱性质几乎一致，说明 ZnPcC₁ 在 HSA 中的结合环境与在 BSA 中的结合环境基本相同。

2.3.2 非共价结合

上文研究已表明 ZnPcC₁ 与白蛋白存在较强的非共价相互作用，于是我们进一步考察该相互作用对 ZnPcC₁ 光谱性质的影响。实验结果表明，在 PBS 溶液(pH 7.4)中，随着 BSA 浓度的递增，ZnPcC₁ 在 682 nm 附近的单体峰吸收强度逐渐增加，但是峰位基本不变，说明酞菁与白蛋白非共价结合后，部分酞菁由聚集转化为单体。图 5 给出了 ZnPcC₁ 在 682 nm 附近的吸收强度与 $c_{\text{BSA}}/c_{\text{ZnPcC}_1}$ 的关系图。从中可见，当 $c_{\text{BSA}}/c_{\text{ZnPcC}_1} = 1$ 时，曲线出现拐点，在这个浓度比之后，ZnPcC₁ 吸收强度随 BSA 增加的变化趋于平缓，说明 ZnPcC₁ 与白蛋白可能形成质量之比为 1:1 的非共价结合物。

如图 6 所示，ZnPcC₁ 在 PBS 溶液(pH 7.4)中的荧光强度很弱，但随着 BSA 的加入，ZnPcC₁ 的荧光发射峰逐渐增强，而峰位基本不变(处于 688 nm 附近)。由于 ZnPcC₁ 在 PBS 溶液中存在严重的聚集行为，所以荧光极弱(聚集体的酞菁几乎不发荧光^[22])，随着 BSA 的加入，ZnPcC₁ 与 BSA

形成非共价结合物,导致部分酞菁由聚集体转化为单体,因而荧光增强。BSA对ZnPcC₁荧光强度的影响方式,与对其Q带吸收强度的影响方式基本一致。

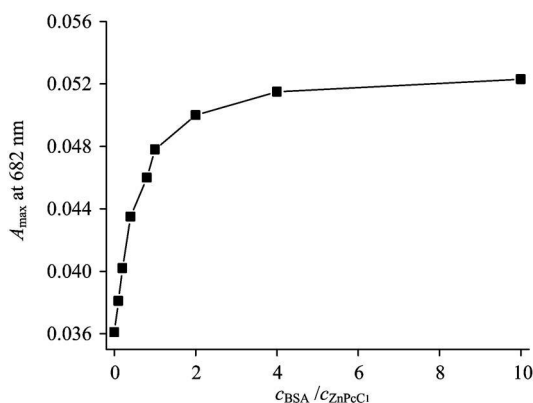


Fig 5 Q-band maximum absorbance change of ZnPeC₁ with

$c_{\text{BSA}}/c_{\text{ZnPeC}_1}$ ascending

$c_{\text{ZnPeC}_1} = 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, c_{BSA} : 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.6, 2, 4, 8, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

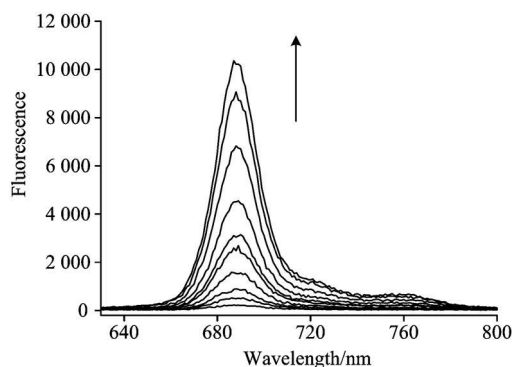


Fig 6 Change in fluorescence spectrum of ZnPeC₁ in PBS upon titration with BSA

$c_{\text{ZnPeC}_1} = 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, c_{BSA} : 0, 0.2,

0.4, 0.6, 0.8, 1.6, 2, 4, 8, $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

HSA对ZnPcC₁电子吸收光谱和荧光光谱的影响规律与BSA几乎一致。在HSA存在下,ZnPcC₁在PBS溶液中也出现较强的Q带单体吸收峰和荧光发射峰,峰位分别位于682和688 nm附近。

2.4 酞菁ZnPcC₁在白蛋白中的非共价结合位点

由于酞菁ZnPcC₁通过非共价相互作用与白蛋白大分子结合前后,其荧光发射强度发生明显变化。本文进一步通过荧光光谱法利用竞争位点标记物分析了ZnPcC₁在白蛋白中的非共价结合位点。

选择氯化血红素(Hemin)、水杨酸钠及布洛芬分别作为HSA蛋白亚域I B、亚域II A(位点I)和亚域III A(位点II)

的竞争位点标记物^[14, 23]。结果表明,当HSA不存在时,三种竞争位点标记物对单独的ZnPcC₁的荧光发射光谱和电子吸收光谱都没有明显影响。但是,在HSA存在下,如图7所示,当加入Hemin(Hemin, ZnPcC₁和HSA的浓度都为 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时,ZnPcC₁的荧光强度大幅降低(降低幅度约为80%);在同样的加入量下,水杨酸钠和布洛芬对ZnPcC₁的荧光发射峰强度没有明显影响。荧光强度大幅度降低,说明ZnPcC₁已脱离白蛋白的结合,成为荧光较弱的游离ZnPcC₁。可见,结合在HSA中的ZnPcC₁能被Hemin置换出来,而不能被水杨酸钠和布洛芬所置换。这表明ZnPcC₁可能结合在HSA的Hemin位置上,即结合在白蛋白HSA的亚域I B。

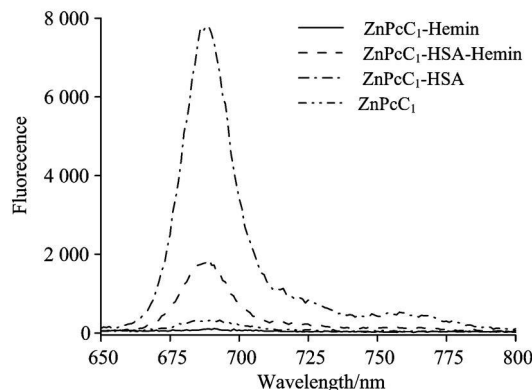


Fig 7 Influence of hemin on fluorescence spectra of ZnPeC₁ and ZnPeC₁: HSA in PBS

$c_{\text{Hemin}} = c_{\text{HSA}} = c_{\text{ZnPeC}_1} = 2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

3 结论

本文研究了ZnPcC₁与白蛋白(BSA和HSA)的共价结合和非共价相互作用。结果表明,ZnPcC₁可通过其取代基末端的羧基与白蛋白上的氨基成酰胺键,从而构建ZnPcC₁-BSA或ZnPcC₁-HSA共价结合物(摩尔组成比大约为7:1);ZnPcC₁与白蛋白(BSA和HSA)存在较强的非共价相互作用(结合常数大约为 $1.0 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$),结合位点位于白蛋白的亚域I B上。

ZnPcC₁与白蛋白结合后,无论是通过共价结合方式还是通过非共价结合方式,都展现出比单独的ZnPcC₁更为明显的单体特征吸收。这一现象有利于光动力治疗,因为只有以单体形式存在的光敏剂才能有效地发挥其光敏活性^[3, 22]。

当共价结合到白蛋白上后,ZnPcC₁的单体吸收峰发生明显的红移(红移至687 nm),而非共价结合方式没有导致峰位红移现象。相对而言,光动力治疗的作用光谱红移是一个有利的变化,因为波长更长的光能更好地穿透人体组织^[24]。

References

- [1] McKeown Neil B. Phthalocyanine Materials: Synthesis, Structure and Function. Cambridge University Press, 1998.

- [2] De la Torre G, Claessens C G, Torres T. *Chem. Commun.*, 2007, 2000.
- [3] Dettý M R, Gibson S L, Wagner S J. *J. Med. Chem.*, 2004, 47(16): 3897.
- [4] HUANG Jin-ling, HUANG Jian-dong, LIU Er-sheng, et al(黄金陵, 黄剑东, 刘尔生, 等). *Acta Phys. Chim. Sin.* (物理化学学报), 2001, 17(07): 662.
- [5] Choi Chifung, Huang Jiandong, Lo Puichi, et al. *Org. Biomol. Chem.*, 2008, 6: 2173.
- [6] Liu Jianyong, Lo Puichi, Fong Wingping, et al. *Org. Biomol. Chem.*, 2009, 7: 1583.
- [7] Lo Puichi, Zhao Baozhong, Duan Wubiao, et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17: 1073.
- [8] Chen Hongwei, Chen Jinchan, Chen Naisheng, et al. *Prog. Biochem. Biophys.*, 2009, 36(9): 1106.
- [9] Stehle Gerd, Wunder Andreas, Schrenk Hans Herrmann, et al. *Anti Cancer Drugs*, 1999, 10(8): 785.
- [10] Sharman W M, van Lier J E, Allen C M. *Adv. Drug Rev.*, 2004, 56: 53.
- [11] Lang K, Mosinger J, Wagnerova D M. *Coord. Chem. Rev.*, 2004, 248: 321.
- [12] LIN Wei, PENG Yi-ru, CHEN Kui-zhi, et al(林伟, 彭亦如, 陈奎治, 等). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2006, 34(3): 411.
- [13] Alarcón E, Edwards A M, Garcia A M, et al. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2009, 8(2): 255.
- [14] Filyasova A I, Kudelina I A, Feofanov A V. *J. Mol. Struct.*, 2001, 565– 566: 173.
- [15] Ogunsipe Abimbola, Nyokong Tebello. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2005, 4: 510.
- [16] WEN Jin-kun, HAN Mei(温进坤, 韩梅). *Medical Molecular Biology: Theory and Research Technology* (医学分子生物学: 理论与研究技术). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1999. 219.
- [17] LIU Yuan, XIE Meng-xia, JIANG Min, et al. *Spectrochimica Acta Part A*, 2005, 61: 2245.
- [18] LIU Tao, ZHANG Gui-feng, ZHOU Wei-bin, et al(刘涛, 张贵锋, 周卫斌, 等). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2007, 35(1): 43.
- [19] MAO Wen-xue, SU Yong, TANG Jing-wu(毛文学, 苏勇, 唐经武). *Chinese J. Org. Chem.* (有机化学), 2006, 26(5): 707.
- [20] WEI Jia, HUANG Jun-lian. *Macromolecules*, 2005, 38: 1107.
- [21] LI Xiyu, HE Xu, Ng A C H, et al. *Macromolecules*, 2000, 33: 2119.
- [22] Ng D K P. *C. R. Chimie*, 2003, 6: 903.
- [23] Zunsain P A, Ghuman J, Komatsu T, et al. *BMC Struct. Biol.*, 2003, 7(3): 6.
- [24] Jori G J. *Photochem. Photobiol. A*, 1992, 62: 371.

Influence of Albumin on the Spectroscopic Properties and Existence State of Mono-Substituted Phthalocyanine Zinc(II)

XIAO Rong-ping, ZHANG Na, HUANG Jian-dong*, ZHANG Han-hui*

College of Chemistry and Chemical Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China

Abstract Interaction between $\text{H-[4-(2-carboxyethyl)phenoxy] phthalocyanine Zinc(II) (ZnPcC}_1\text{)}$ and albumin (human serum albumin or bovine serum albumin) was studied. ZnPcC_1 can be covalently bound to albumin through amide bond formation. The molar ratios of ZnPcC_1 to albumins are found to be about 7: 1 in the covalent bioconjugates. On the other hand, there are strong non-covalent interactions between ZnPcC_1 and albumins with a binding constant of ca. $1.0 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$. Binding sites competition experiments suggest that the binding site locates in subdomain I B of human serum albumin. When conjugated to albumin, no matter covalent conjugation or non-covalent conjugation, the ZnPcC_1 exhibit more distinctive characteristic monomer absorption than the free ZnPcC_1 , which is a property beneficial to photodynamic therapy. Covalent conjugation results in the Q-band of ZnPcC_1 red-shifting about 5 nm, whereas non-covalent conjugation does not lead to red-shift.

Keywords Phthalocyanine; Albumin; Conjugate; Spectroscopic property; Photosensitizer

(Received May 10, 2010; accepted Aug. 20, 2010)

* Corresponding author