

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0937

文章编号 1671-8852(2026)09-1167-06

亚甲蓝纳米颗粒的制备及其用于光动力疗法体外抑制红色毛癣菌的初步研究

张 钰 张 蕾 吴剑波

武汉大学中南医院皮肤科 湖北 武汉 430071

摘要 目的:制备聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸(PEG-PLGA)负载亚甲蓝纳米颗粒并对其体外光动力抗红色毛癣菌作用进行初步评估。方法:使用超声复乳法制备 PEG-PLGA 负载亚甲蓝纳米颗粒。采用单因素控制变量法考察不同工艺条件对纳米颗粒理化特征的影响,筛选出制备纳米颗粒的最佳工艺,然后初步研究了纳米颗粒介导的光动力疗法对体外红色毛癣菌的抑制作用。分别用亚甲蓝(MB)与亚甲蓝纳米颗粒(MB-NP)对红色毛癣菌进行光动力处理,同时设置避光组作为对照,使用菌落形成单位(CFU)计数法直接评估亚甲蓝或亚甲蓝纳米颗粒介导的光动力疗法对红色毛癣菌的抑制作用。同时测定了亚甲蓝和亚甲蓝纳米颗粒的单线态氧($^1O_2$)产量以及在真菌细胞内活性氧(ROS)的产生情况。结果:制备所得纳米颗粒粒径均在 150~250 nm 之间,聚合物分散性指数(PDI)为 0.14 ± 0.04 ,包封率为 $(19.15 \pm 1.04)\%$ 。CFU 计数结果显示亚甲蓝纳米颗粒介导的光动力疗法的真菌抑制率(IR)为 $(19.18 \pm 2.67)\%$,低于亚甲蓝所介导的光动力疗法($IR > 99.99\%$)。亚甲蓝纳米颗粒及亚甲蓝水溶液 $^1O_2$ 产量分别为 0.22 ± 0.01 和 0.23 ± 0.01 ,两组差异无统计学意义($t = -1.43, P = 0.23$)。对于真菌细胞内 ROS 水平,亚甲蓝纳米颗粒光动力处理组的 ROS 产量为 10.28 ± 0.09 ,亚甲蓝光动力处理组为 12.24 ± 0.30 ,两组差异有统计学意义($t = -6.25, P = 0.003$)。结论:超声复乳法制备的 PEG-PLGA 负载亚甲蓝纳米颗粒具有粒径均一、分散性良好的特点。亚甲蓝纳米颗粒具有良好的生物相容性,但对于光激活亚甲蓝时活性氧产量无增加作用,亚甲蓝纳米颗粒介导的光动力抗红色毛癣菌作用弱于普通亚甲蓝光动力疗法。

关键词 亚甲蓝;聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸(PEG-PLGA);纳米粒;复乳法;光动力疗法;红色毛癣菌

中图分类号 R756

文献标志码 A

Preparation of methylene blue-loaded nanoparticles and a preliminary study of photodynamic anti-*Trichophyton rubrum* effect in vitro

ZHANG Yu, ZHANG Lei, WU Jianbo

Department of Dermatology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China

Abstract

Objective: To prepare polyethylene glycol-poly(lactic-co-glycolic acid) (PEG-PLGA) nanoparticles loaded with methylene blue and conduct a preliminary evaluation of their *in vitro* anti-*Trichophyton rubrum* photodynamic activity. **Methods:** Methylene blue-loaded PEG-PLGA nanoparticles (MB-NP) were prepared by the ultrasound double emulsion method. The single factor controlled variable method was used to examine the effects of nine different factors, and the optimal process for the preparation of nanoparticles was screened. Then, a preliminary study on the inhibitory effect of nanoparticle-mediated photodynamic therapy against *Trichophyton rubrum in vitro* was performed. Photody-

作者简介:张钰,女,1995—,医学硕士,主管技师,主要从事胃癌、肝癌标志物及其分子机制研究,E-mail: chriss1226@whu.edu.cn;张蕾,女,1999—,医学硕士,主要从事真菌病的研究,E-mail: 3465678847@qq.com。张钰和张蕾为本文共同第一作者。
通信作者:吴剑波,E-mail:wurudai@163.com。

dynamic therapy was applied to *Trichophyton rubrum* using either methylene blue (MB) or MB-NP, with light-protected groups serving as controls. Colony-forming unit (CFU) counting was used to directly evaluate the inhibitory effect of MB- or MB-NP-mediated photodynamic therapy on *Trichophyton rubrum*. Additionally, singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) production by MB and MB-NP aqueous solutions and reactive oxygen species (ROS) generation in fungal cells were measured using optical methods.

Results: The optimal process for the preparation of methylene blue nanoparticles was obtained. The diameter of nanoparticles was between 150 and 250 nm, the encapsulation efficiency was $(19.15 \pm 1.04)\%$, and the polymer dispersity index (PDI) was 0.14 ± 0.04 . For CFU counts, the results showed that the fungal inhibition rate (IR) of MB-NP-mediated photodynamic therapy was only $(19.18 \pm 2.67)\%$, lower than that of MB-PDT ($\text{IR} > 99.99\%$). For levels of $^1\text{O}_2$ in MB and MB-NP water solution, results showed that the intensity of $^1\text{O}_2$ levels in MB-NP solution was 0.22 ± 0.01 and 0.23 ± 0.01 in MB solution. There was no significant difference between the two groups ($t = -1.43$, $P = 0.23$). For levels of ROS in fungal cells, the ROS intensity was 10.28 ± 0.09 in the MB-NP group and 12.24 ± 0.30 in the MB group. The difference between the two groups was significant ($t = -6.25$, $P = 0.003$). **Conclusion:** The double emulsion method is an optimal approach for preparing methylene blue-loaded PEG-PLGA nanoparticles. The prepared methylene blue nanoparticles have uniform size and good dispersion. The carrier has good biocompatibility and will not change the photodynamic effect of methylene blue. However, MB-NP-mediated photodynamic anti-*Trichophyton rubrum* effect is weaker than routine methylene blue treatment.

Key Words Methylene Blue; Polyethylene Glycol-Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) (PEG-PLGA); Nanoparticles; Double Emulsion Method; Photodynamic Therapy; *Trichophyton Rubrum*

聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸[(polyethylene glycol-poly (lactic-co-glycolic acid), PEG-PLGA)]是一种新型的药物递送系统,由疏水链段的聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)和亲水链段的聚乙二醇(PEG)组成。PLGA是由乳酸和羟基乙酸聚合形成的,无毒、无刺激性,具有良好的生物相容性,被广泛应用于药物递送系统的研究^[1]。PEG可以增加聚合物的亲水性,有利于提高药物递送系统的水溶性^[2-3]。

亚甲蓝光动力疗法(methylene blue mediated-photodynamic therapy, MB-PDT)以亚甲蓝作为光敏剂,亚甲蓝在最佳吸收波长(630~680 nm)光源照射下可通过电子或能量转移与氧气发生 I 型和(或) II 型反应,其中 I 型反应生成高活性自由基(O_2^- 、 H_2O_2 、 OH^-)组成活性氧(reactive oxygen species, ROS)混合物, II 型反应主要生成单线态氧(singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)。这些产物均可破坏多种细胞结构,导致不可逆的细胞损伤^[4]。亚甲蓝作为一种阳离子染料,是具有代表性的 II 型光敏剂,易受浓度与 pH 影响而自发形成二聚体形式,二聚化发生时其 $^1\text{O}_2$ 产率较低^[5]。

MB-PDT 已被证实可在体外有效抑制红色毛

癣菌,从而用于该菌感染相关甲真菌病的治疗。与口服抗真菌药物不同,MB-PDT 无肝肾毒性等不良反应,人群普遍适用。但目前临床研究中使用 MB-PDT 治疗甲真菌病的效果有限且仍具有复发性^[6-8]。这可能有以下原因:首先,甲板对光敏剂的阻碍性,病变增厚的甲板可导致亚甲蓝药物透过率下降^[9]。其次,真菌生物膜的形成可阻碍亚甲蓝的透过性,真菌生物膜是指真菌微生物群落为了自我保护,分泌细胞外基质,将自身包绕其中而形成的膜样多细胞群体。生物膜的形成使亚甲蓝的渗透受阻,真菌耐药性、致病力增强^[10-11]。此外,亚甲蓝二聚体的形成不利于 $^1\text{O}_2$ 的产生^[4]。最后,真菌细胞内的 NAD(P)H 使亚甲蓝还原为无光动力活性的无色亚甲蓝,会影响光动力疗法的效果^[5]。

研究^[12]发现 PLGA 负载的亚甲蓝制剂可增强光动力抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌作用,可有效治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的伤口,与纳米颗粒对光敏剂的保护及缓释作用有关。使用 PLGA 负载可保护亚甲蓝并减少其二聚体化,其缓释特性可增加药物浓度,提高药物亲水性。本研究引入亲水性基团 PEG,以 PEG-PLGA 作为亚甲蓝

分子的载体,筛选出制备亚甲蓝纳米颗粒的最佳工艺,并初步评价亚甲蓝纳米颗粒体外光动力疗法的抗红色毛癣菌疗效,探讨其作用机制及今后可能应用的方向。

1 材料与方法

1.1 亚甲蓝纳米颗粒的制备与评价

1.1.1 亚甲蓝纳米颗粒的基本制备流程及工艺优化
使用超声复乳法制备纳米颗粒,以亚甲蓝注射液或亚甲蓝水溶液为内水相(w1),以一定量的PEG-PLGA聚合物溶解于有机溶剂中制成油相(o),将w1加入o中,使用超声细胞破碎仪冰浴下超声振荡后形成初乳,再将初乳加入外水相(w2) 1% 聚乙烯醇(polyvinyl alcohol,PVA)水溶液中,冰浴下超声制成预复乳,立即将预复乳加入到0.5% PVA水溶液中,温和磁力搅拌4 h后,使用高速离心机12 000 r·min⁻¹转速下离心10 min,将获得的沉淀用去离子水洗涤3次后离心获得亚甲蓝纳米颗粒,置于4℃保存。

采用单因素控制变量法,筛选以下几个关键因素。①设备参数:对比高功率水平超声细胞破碎仪(总功率650 W,宁波SCIENTZ生物科技有限公司,宁波,中国)及低功率水平超声细胞破碎仪(总功率150 W,SONICS-VC×150,Newtown,美国);探究初乳/复乳功率梯度(40%~100%)及超声间歇模式的影响;②物料配比:考察PEG-PLGA质量(100~200 mg)、内水相体积(0.25~1 mL)及亚甲蓝浓度(5~20 mg·mL⁻¹)的效应;③溶剂筛选:评估乙酸乙酯/丙酮/二氯甲烷作为油相的适用性,并对比纯水配置与临床注射液的內水相渗透压差异。

1.1.2 亚甲蓝纳米颗粒的质量评价 包封率测定:使用多功能酶标仪测定复乳悬液和离心后上清液的吸光度,根据吸光度与浓度的关系换算为亚甲蓝的浓度。计算公式:包封率=(初始亚甲蓝总量-游离亚甲蓝总量)/初始亚甲蓝总量×100%。物理表征:采用Zetasizer纳米电位粒度仪测定亚甲蓝纳米颗粒的粒径及聚合物分散性指数(polymer dispersity index,PDI)。其中PDI指纳米颗粒粒径分布均匀度,数值越接近0说明纳米颗粒大小越均匀,分散性越好。使用透射电子显微镜(transmission electron microscope,TEM)观察形貌特征。

1.2 光动力疗法体外抑制红色毛癣菌的作用评估

1.2.1 红色毛癣菌菌悬液的制备及光动力处理
菌悬液的制备:使用燕麦培养基将红色毛癣菌(美

国菌种保藏中心,ATCC28188)置于28℃真菌培养箱中培养1~2周,加入5 mL PBS,用一次性巴斯德移液管轻轻抽吸菌落表面,经纱布过滤1~2次后获得孢子悬液。悬液以3 500 g的离心力离心5 min后重新悬浮,利用血球计数板将菌悬液调节至 $4 \times 10^7 \sim 7 \times 10^7$ CFU·mL⁻¹。随后接种到RPMI-1640液体培养基中37℃摇床下(转速为210 r·min⁻¹)培养2 d后得到菌丝,用PBS洗涤2次后重悬得红色毛癣菌菌丝悬液。

光动力处理实验设计:使用PBS溶液将亚甲蓝(MB)溶液和MB-NP悬液分别稀释为4 μg·mL⁻¹,每种药物取3份作为对照。将获取的菌悬液根据处理因素和光照/避光(±光照)进行以下6组处理:PBS±光照、MB±光照、MB-NP±光照。在1.5 mL试管中混合250 μL菌丝悬液和等体积溶液。所得各组混合液在暗处放置10 min后进行处理。其中光照组使用峰值波长为635 nm的光子治疗仪以固定功率44 mW·cm⁻²照射10 min,照射时将试管置于距光源5 cm处。非光照组放置在暗处静置。

1.2.2 光动力作用效应测定 直接杀伤效应的测定:通过菌落计数测定抑制率(inhibition rate,IR)=[(B-A)/B]×100%,A为各组处理的活菌落数,B为对照组(本试验中为PBS溶液+无光照组)表面的活菌落数。吸取100 μL混合液进行10倍比稀释后接种至沙堡氏琼脂培养基,28℃下培养7 d,对菌落形成单位(colony-forming unit,CFU)计数并拍照。为保证计数的准确性,以每皿20~200 CFU为宜。将计数结果转换为对数10,并进行统计分析。

¹O₂产生能力的测定:使用9,10-蒽二基双(亚甲)-二丙二酸[9,10-anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid,ABDA]作为探针。ABDA与¹O₂结合后共轭程度下降,表现为378 nm处吸光度的下降。将MB或MB-NP水溶液与ABDA混合,进行前述处理后使用多功能酶标仪检测,以光照组吸光度较非光照组下降值大小衡量¹O₂的产生能力。

真菌细胞内ROS的检测:使用ROS试剂盒测定真菌细胞内活性氧水平,用RPMI-1640稀释,7-二氯双乙酸荧光素(DCFH-DA)制成工作液,用于28℃培养箱内避光孵育红色毛癣菌30 min,其间每隔3~5 min进行混匀,完成后离心收集并用PBS洗涤2次后重悬,进行前述光动力处理。处理结束后使用多功能酶标仪测定,参数设置为激发光波长

488 nm, 发射光波长 520 nm。荧光值/菌落数 (AFU/CFU)使结果标准化,以处理组(MB 和 MB-NP 处理组)荧光强度增加值/对照组(PBS 组)荧光强度增加值作为 ROS 强度的定量基础。

1.3 统计学分析 使用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。CFU 计数数据、ROS 水平、 $^1\text{O}_2$ 产量表示为均数±标准差,采用独立样本 *t* 检验进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 亚甲蓝纳米颗粒制备的最佳工艺 配置 10 mg·mL⁻¹ 的亚甲蓝水溶液 0.5 mL 作为内水相,称取 150 mg 的 PEG-PLGA,溶于 5 mL 的丙酮中制成油相,使油水比为 10:1。以 1% 和 0.5% 的 PVA 水溶液作为外水相。将内水相倒入油相,使用低功率超声破碎仪(总功率 150 W)在冰浴下进行超声破碎,设定 60% 功率,总工作时间 1 min(工作 2 s、停止 2 s),超声形成初乳。将制得的初乳倒入 10 mL 的 1%PVA 的外水相中,设定 40% 功率,总工作时间 3 min(工作 2 s、停止 2 s),冰浴下超声制得预复乳。将预复乳倒入 10 mL 的 0.5%PVA 溶液,室温下用磁力搅拌器以 290~310 r·min⁻¹ 转速搅拌 3~4 h,挥发油相制得复乳。使用高速离心机将制得溶液在 4℃、转速 12 000 r·min⁻¹ 下离心 10 min,弃上清,加入蒸馏水超声分散,继续离心,重复两次后弃上清,4℃冷藏保存备用。

2.2 亚甲蓝纳米颗粒的表征 以最优制备工艺重复试验 3 次,所得纳米颗粒粒径均在 150~250 nm 之间,粒径分布图在 1~1 000 nm 间只有一个峰(见图 1,取 log 值为 1~3),PDI 指数为 0.14±0.04,包封率为 (19.15±1.04)%,所制备的纳米颗粒大小均匀,分散性良好。透射电镜下纳米颗粒大小较为一致均匀,呈规则球形(图 2)。初乳为均匀的深蓝色乳液(图 3A),复乳为均匀一致、稳定不沉淀的乳蓝色乳

液(图 3B),离心后获取纳米颗粒,烘干后为蓝色固体颗粒(图 3C)。

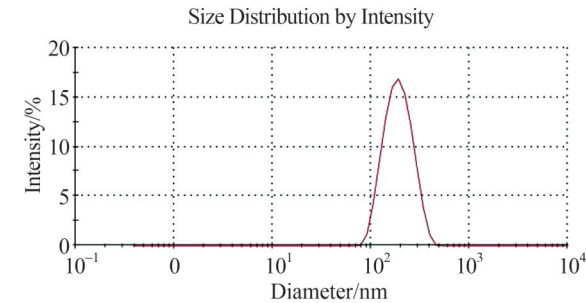


图 1 亚甲蓝纳米颗粒的粒径分布图

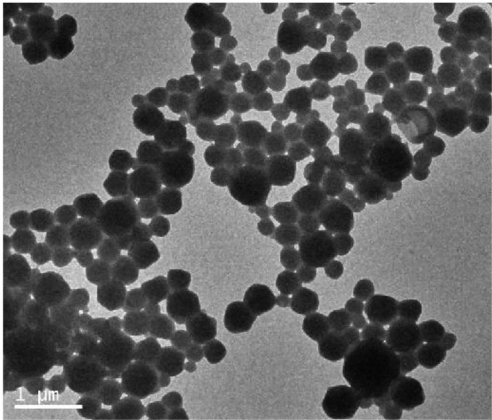
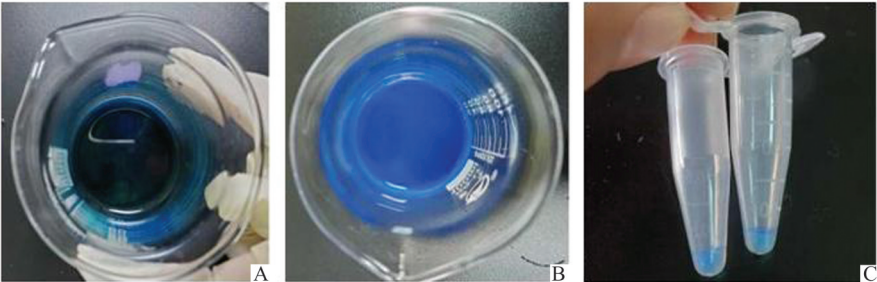


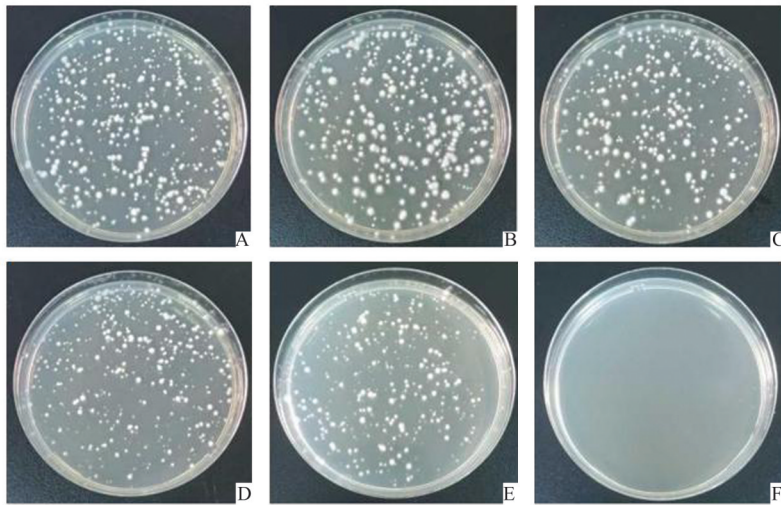
图 2 亚甲蓝纳米颗粒的 TEM 图像

2.3 光动力疗法体外抑制红色毛癣菌的作用

2.3.1 光动力疗法对红色毛癣菌的抑制率 菌落计数如图 4 所示,PBS 光照处理组(图 4D)与 PBS 避光处理组(图 4A)计数结果无明显差异,MB 避光处理组(图 4C)和 MB-NP 避光处理组(图 4B)对真菌生长无抑制作用。菌悬液加 MB 光照处理组(图 4F)表现出真菌生长完全抑制作用($\text{IR}>99.99\%$),菌悬液加 MB-NP 溶液光照处理组(图 4E)的真菌生长抑制率仅为 (19.18±2.67)%。说明亚甲蓝纳米颗粒光动力抑制真菌作用弱于普通亚甲蓝 ($t=7.20, P=0.002$)。



A. 水/油初乳;B. 水/油/水复乳;C. 亚甲蓝纳米颗粒烘干后。
图 3 亚甲蓝纳米颗粒制备过程的数字图像



A. PBS+菌悬液避光处理组; B. MB-NP+菌悬液避光处理组; C. MB+菌悬液避光处理组; D. PBS+菌悬液光照处理组; E. MB-NP+菌悬液光照处理组; F. MB+菌悬液光照处理组。

图4 各组菌落计数结果图片

2.3.2 ROS及 $^1\text{O}_2$ 产量结果 试验结果见表1,在真菌细胞体系内,亚甲蓝纳米颗粒处理组ROS水平强度值为 10.28 ± 0.09 ,亚甲蓝组为 12.24 ± 0.30 ,亚甲蓝组活性氧产生水平高于亚甲蓝纳米颗粒组($t=-6.25, P=0.003$)。这说明光照激发时亚甲蓝纳米颗粒对真菌细胞内活性氧水平没有提升作用。在无细胞体系下,亚甲蓝纳米颗粒组活性氧水平强度值为 0.22 ± 0.01 ,亚甲蓝组为 0.23 ± 0.01 ,两组无显著差异($t=-1.43, P=0.23$)。二者在光照激发时产生的单线态氧水平没有显著差异。

表1 MB和MB-NP的ROS及 $^1\text{O}_2$ 产量强度值($\bar{x}\pm s$)

指标	MB-NP	MB	t	P
ROS	10.28 ± 0.09	12.24 ± 0.30	-6.25	0.003
$^1\text{O}_2$	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.01	-1.43	0.23

注:MB-NP. 亚甲蓝纳米颗粒(methylene blue nanoparticles); MB. 亚甲蓝(methylene blue); ROS. 活性氧(active oxygen species); $^1\text{O}_2$. 单线态氧(singlet oxygen)。

3 讨论

本研究采用超声复乳法制备负载MB的PEG-PLGA纳米颗粒,通过单因素控制变量法获得最佳参数,所制备的MB-NP均匀稳定,具有良好的分散性。CFU结果表明,当MB光照组基本实现真菌生长完全抑制时,MB-NP光照组的真菌生长抑制率仅为 $(19.18\pm 2.67)\%$,说明MB-NP相较MB没有提高反而使真菌抑制率降低。这可能由于PEG-PLGA的引入在负载亚甲蓝、保护亚甲蓝分子免受破坏的同时,也限制了光照时亚甲蓝所产生的活性

氧脱离纳米颗粒,进而减弱了对真菌细胞的杀伤作用。另外,研究中使用的MB浓度为 $4\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,该浓度下亚甲蓝二聚化程度较低,单位质量PEG-PLGA所负载的亚甲蓝也较少,故载体对于亚甲蓝分子的抗二聚体化的作用也未能很好地体现。

本研究测定了MB-NP及MB受光照时,在有和无真菌细胞两种体系内产生ROS及 $^1\text{O}_2$ 的能力,发现二者在数值上均表现为MB-NP低于MB。这说明MB-NP与MB相比无明显优势,这可能是PEG-PLGA中存在的官能团会与产生的活性氧发生相互作用,导致活性氧探针无法有效捕获MB受光照后产生的活性氧。另外,PEG-PLGA可实现药物的缓慢释放作用,通常在控释系统中更能显示优势,由于缺乏光动力效应和光热效应,PEG-PLGA在即时发生的光动力效应中无增效作用。在真菌细胞体系中,MB-NP光照组产生ROS的能力虽弱于MB光照组,但也说明MB-NP或许能通过真菌细胞壁和细胞膜进入细胞内。

在光动力疗法中,光敏剂进入细胞后会立即与光发生作用,但PEG-PLGA装载系统的持续释放特性在这一过程中并未起到辅助作用。相反,纳米颗粒上聚集的亚甲蓝分子所产生的活性氧可能与PEG-PLGA发生反应,导致活性氧无法有效释放,进而降低了光动力抗真菌的效果。基于这些考虑,我们认为有必要进一步深入研究。PEG-PLGA因其良好的生物相容性和药物释放性能,可作为某些抗真菌药物的载体,实现药物在真菌感染组织中的持续释放。而对于亚甲蓝光动力疗法,我们可以考

虑选用那些同时具备光动力效应和光热效应的载体。

本研究首次采用 PEG-PLGA 作为光敏剂亚甲蓝的载体,这是一种生物相容性好、亲水性强的聚合物。本研究重点介绍了亚甲蓝纳米颗粒的制备方法和工艺。超声复乳液法可为制备高分子有机化合物纳米颗粒提供参考。实验结果证明 PEG-PLGA 纳米颗粒具有良好的稳定性和药物活性保护作用,为生物纳米材料的选择提供了依据。而本研究的局限性在于药物选择过于单一。对于立竿见影的光敏剂药物,有必要选择一些电子传递中间体、具有光动力效应或光热效应的材料。制备的纳米颗粒在抗真菌药物缓释中的作用有待进一步研究。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] 陈泽宇,付烨,张茜,等. PLGA 的降解行为及应用研究进展[J]. 中国塑料, 2024, 38(1): 92-99.
CHEN Z Y, FU Y, ZHANG X, et al. Research progress in degradation behavior and applications of PLGA [J]. China Plast, 2024, 38(1): 92-99.
- [2] SU Y, ZHANG B L, SUN R W, et al. PLGA-based biodegradable microspheres in drug delivery: Recent advances in research and application[J]. Drug Deliv, 2021, 28(1): 1397-1418.
- [3] 柳阳,朱艳华,孙佳琳,等. 聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸嵌段共聚物载药纳米粒制备方法的研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(16): 2274-2277.
LIU Y, ZHU Y H, SUN J L, et al. Research progress on preparation methods of drug-loaded nanoparticles based on polyethylene glycol-poly(lactic acid-glycolic acid) block copolymers[J]. China Pharmacy, 2017, 28(16): 2274-2277.
- [4] TURCHIELLO R F, OLIVEIRA C S, FER-NANDES A U, et al. Methylene blue-mediated photodynamic therapy in human retinoblastoma cell lines[J]. J Photochem Photobiol B, 2021, 222: 112260.
- [5] TARDIVO J P, DEL GIGLIO A, DE OLIVEIRA C S, et al. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2005, 2(3): 175-191.
- [6] FIGUEIREDO SOUZA L W, SOUZA S T, BOTELHO A C. Randomized controlled trial comparing photodynamic therapy based on methylene blue dye and fluconazole for toenail onychomycosis[J]. Dermatol Ther, 2014, 27(1): 43-47.
- [7] TARDIVO J P, WAINWRIGHT M, BAPTISTA M. Small scale trial of photodynamic treatment of onychomycosis in São Paulo[J]. J Photochem Photobiol B, 2015, 150: 66-68.
- [8] ALBERDI E, GÓMEZ C. Methylene blue vs methyl aminolevulinate photodynamic therapy in the treatment of mild-to-moderate toenail onychomycosis: Short- and medium-term effects[J]. Dermatol Ther, 2020, 33(6): e14280.
- [9] ELSAYED M M A. Development of topical therapeutics for management of onychomycosis and other nail disorders: A pharmaceutical perspective[J]. J Control Release, 2015, 199: 132-144.
- [10] 郭彦伟,王凌峰,孟昭彦,等. 真菌生物膜耐药机制与防治研究进展[J]. 中外医疗, 2014, 33(27): 197-198.
GUO Y W, WANG L F, MENG Z Y, et al. Research progress on drug resistance mechanisms and prevention strategies of fungal biofilms[J]. China Foreign Med Treat, 2014, 33(27): 197-198.
- [11] GUPTA A K, DAIGLE D, CARVIEL J L. The role of biofilms in onychomycosis[J]. J Am Acad Dermatol, 2016, 74(6): 1241-1246.
- [12] XU X M, HU Y S, ZHANG L P, et al. Lactic-co-glycolic acid-coated methylene blue nanoparticles with enhanced antibacterial activity for efficient wound healing [J]. RSC Adv, 2020, 10(21): 12304-12307.

(2024-12-04 收稿)

编辑 袁 靓