

· 实验研究 ·

卟啉杂化中空介孔有机硅分子探针体外超声显影及声动力治疗脑胶质瘤的实验研究

邓黎明, 张亮, 骆杰

摘要 **目的** 制备卟啉杂化中空介孔有机硅分子探针 TCPP@HMON(以下简称 THMON), 探讨其体外超声显影能力及声动力治疗脑胶质瘤的疗效。**方法** 采用原位生长法制备 THMON, 观察其形态并检测粒径及表面电位, 计算 THMON 溶液中硅含量及 TCPP 的封装率、载药率。使用体外单线态氧绿色荧光探针(SOSG)检测 THMON 在不同超声辐照条件下(声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm², 时间 0~300 s)的单线态氧并获取荧光强度。采集不同浓度(0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/ml)THMON 溶液的体外超声图像, 定量分析其回声强度。使用激光共聚焦显微镜观察不同孵育时间(2、3、7 h)人脑星形胶质母细胞瘤细胞(U87MG)对 THMON 的吞噬能力。采用 CCK-8 法验证 THMON 对 U87MG 的毒性, 观察其在不同超声辐照条件下(声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm², 时间均为 30 s)杀伤细胞的效果。将 200 μ l THMON 溶液(浓度为 0.5 mg/ml)和等量生理盐水分别经尾静脉注入 BALB/c 小鼠体内(设为实验组和对照组, 每组各 3 只), 14 d 后进行血常规、肝肾功能检测, 检测 THMON 在 BALB/c 小鼠体内的安全性。**结果** THMON 为大小均一的中空介孔球形结构, 平均粒径为 (121.5 $\pm$ 24.3) nm, 平均表面电位为 (-78.5 $\pm$ 1.1) mV, 硅含量为 0.84 mg/ml; THMON 溶液中 TCPP 的封装率和载药率分别为 35.9%、3.0%。随着超声辐照强度的增加及时间的延长, SOSG 的荧光强度逐渐增强。当 THMON 溶液浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/ml 时, 其超声显影能力逐渐增强, 回声强度分别为 22.00、23.30、29.00、39.00、43.67、62.00、68.67 a.u.。细胞吞噬实验结果显示, 随着孵育时间的延长, U87MG 细胞核周围 THMON 红色荧光信号逐渐增多。细胞毒性实验结果显示, 在无超声辐照条件下, THMON 溶液浓度为 320 μ g/ml 时细胞存活率为 (80.71 $\pm$ 8.54)%, 细胞活性未受明显影响; 当 THMON 溶液浓度为 320 μ g/ml 时, 分别以声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm² 超声辐照 30 s 后, 细胞存活率为 (55.46 $\pm$ 5.31)%、(41.21 $\pm$ 7.35)%, 与无超声辐照的 THMON 溶液比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。体内实验结果显示, 注射 THMON 溶液后, 实验组小鼠血常规和肝肾功能指标与对照组比较差异均无统计学意义。**结论** 本实验成功制备了 THMON, 其具有良好的生物安全性, 不但可增强体外超声显影能力, 还可通过声动力作用有效抑制脑胶质瘤细胞增殖。

关键词 有机硅分子探针; 超声显影; 声动力治疗; 脑胶质瘤

[中图分类号] R445.1

[文献标识码] A

Porphyrin-hybridized hollow mesoporous organosilica molecular probes for *in vitro* ultrasound imaging and sonodynamic therapy of glioma: an experimental study

DENG Liming, ZHANG Liang, LUO Jie

Department of Ultrasound, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

ABSTRACT **Objective** To synthesize porphyrin-hybridized hollow mesoporous organosilica molecular probes TCPP@HMON(hereafter termed THMON), and to explore the capability for *in vitro* ultrasound imaging and sonodynamic therapy (SDT) of glioma. **Methods** THMON was synthesized by in-situ growth method, the morphology was observed, and its particle size and surface potential were measured. The silicon content in THMON, as well as TCPP encapsulation efficiency and drug loading rate were calculated. The singlet oxygen generated by THMON under ultrasound irradiation at different acoustic intensities (0.5 W/cm², 1.0 W/cm²) and durations (0~300 s) were detected by extracellular singlet oxygen sensor green (SOSG) fluorescent probe, and the fluorescence intensity was measured. Ultrasound imaging performance of THMON at different concentrations (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 mg/ml) were evaluated, the echo intensities were quantitatively analyzed. Laser

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(82202175)

作者单位: 重庆医科大学附属第一医院超声科, 重庆 400016

通讯作者: 骆杰, Email: 203227@hospital.cqmu.edu.cn

confocal microscopy was used to observe the phagocytic ability of human glioblastoma astrocytoma cells (U87MG) against THMON with different incubation time (2, 3, 7 h). The cytotoxicity of THMON on U87MG were verified by the CCK-8 assay, the SDT efficacy was observed under different ultrasound irradiation (intensity: 0.5 W/cm² and 1.0 W/cm², duration: 30 s). 200 μ l of THMON (concentration of 0.5 mg/ml) and an equal volume of normal saline were injected into BALB/c mice via the tail vein (3 mice in the experimental group, and 3 mice in the control group), respectively. After 14 d, routine blood tests as well as liver and kidney function tests were used to evaluate the safety of THMON in BALB/c mice. **Results** THMON exhibited a uniform hollow mesoporous spherical structure, with an average particle size of (121.5 $\pm$ 24.3) nm and an average surface potential of (-78.5 $\pm$ 1.1) mV. The silicon content was 0.84 mg/ml. The encapsulation efficiency and drug loading rate of TCPP were 35.9% and 3.0%, respectively. The fluorescence intensity of SOSG gradually enhanced with increasing irradiation intensity and time. When the THMON concentrations were 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2 mg/ml, the echo intensities were 22.00, 23.30, 29.00, 39.00, 43.67, 62.00, 68.67 a. u., respectively. The cell phagocytosis assay revealed a progressive accumulation of red THMON fluorescent signal in the perinuclear region of U87MG with increasing incubation time. Cytotoxicity assay results demonstrated that without ultrasound irradiation, the cell viability was (80.71 $\pm$ 8.54)% at a THMON concentration of 320 μ g/ml, indicating no significant cytotoxic effect. However, when THMON (concentration of 320 μ g/ml) was exposed to ultrasound irradiation at intensities of 0.5 W/cm² and 1.0 W/cm² for 30 s, the cell viabilities decreased to (55.46 $\pm$ 5.31)% and (41.21 $\pm$ 7.35)%, respectively. There were significant differences compared to without ultrasound irradiation (both P <0.05). The *in vivo* experimental results demonstrated that after THMON injection, there were no statistically significant differences in the routine blood tests and liver and kidney function indicators between the experimental group and the control group. **Conclusion** THMON is successfully synthesized with favorable biosafety, and it enhances *in vitro* ultrasound imaging and effectively inhibits glioblastoma cell proliferation by SDT.

KEY WORDS Organosilica molecular probe; Ultrasound imaging; Sonodynamic therapy; Glioma

脑胶质瘤是临床最常见的原发性颅内肿瘤,其侵袭性强、异质性显著,严重威胁人类健康^[1-2]。手术、化疗、放疗均为治疗脑胶质瘤的传统方式,但由于其高复发率及血脑屏障的存在,难以满足复杂的临床需求,使得脑胶质瘤成为预后极差的恶性肿瘤之一^[3]。随着医疗技术的不断创新,光动力疗法、光热疗法及声动力疗法等无创治疗技术逐渐崭露头角,并在临床实践中受到广泛关注^[4]。相较于光动力疗法和光热疗法,声动力疗法具有能够突破光激活深度限制的独特优势,在临床肿瘤治疗中展现出重要价值^[5]。然而,现有声敏剂为小分子,难以穿透血脑屏障并在肿瘤部位富集,严重影响声动力作用效果^[6]。本实验通过化学同源原理将卟啉杂化入中空介孔有机硅分子中,制备一种新型声敏分子探针 TCPP@HMON (以下简称 THMON),探讨其体外超声显影能力及声动力治疗脑胶质瘤细胞的疗效,旨在为脑胶质瘤的精准治疗提供一种新思路。

材料与方法

一、实验材料及仪器

1. 主要试剂:正硅酸乙酯 (TEOS)、十六烷基三甲基氯化铵 (CTAC)、三乙醇胺 (TEA)、双(三乙氧基硅烷)二硫化物 (BTES)、3-氨基三乙氧基硅烷 (APTES, 纯度 98%) 均购于美国 Sigma 公司;无水甲醇、N,N-二甲基甲酰胺试剂 (DMF)、氨水、浓硝酸均购于国药集

团化学试剂有限公司;四(4-羧基苯基)卟啉 (TCPP) 购于美国 Frontier Scientific 公司;DMEM 培养基、胎牛血清、青链霉素混合液、胰酶均购于上海润成生物有限公司;CCK-8 试剂盒、Hoechst 33342 活细胞染色液、单线态氧绿色荧光探针 (SOSG) 均购于上海碧云天生物技术有限公司。

2. 实验动物及细胞:6 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠 6 只,购于重庆恩彼生物科技有限公司,体质量 16~18 g,饲养于重庆医科大学实验动物中心;人脑星形胶质母细胞瘤细胞 (U87MG) 购于武汉普诺赛生命科技有限公司。本实验经重庆医科大学动物伦理委员会批准 (批准号: IACUC-CQMU-2024-0471)。

3. 主要仪器:超声理疗仪 (重庆海扶技术有限公司, 频率 1 MHz, 占空比 50%);DFY 定量分析仪 (重庆医科大学超声影像学研究所);能量色散光谱仪 (JED-2300, 日本电子株式会社);粒径电位分析仪 (Zetasizer Nano ZS90, 英国 Malvern 仪器公司);透射电子显微镜 (JEM-F200, 日本电子株式会社);紫外-可见分光光度计 (UV-2501, 日本岛津公司);荧光分光光度计 (F-7000, 日本日立公司);光声成像仪 (Vero LAZR, 加拿大 Visual Sonics 公司);激光扫描共聚焦显微镜 (LSM 780, 德国蔡司公司);电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-MS, ICAP 6300 Duo, 美国 Thermo Fisher 公司);高速离心机 (5804R, 德国 Eppendorf 公司);Millipore 超

纯水制备系统(美国 Millipore 公司)。

二、实验方法

1. THMON 的制备:采用原位生长法制备 THMON。首先通过化学同源原理合成壳核结构的 MSN@THMON, 具体方法为:圆底烧瓶中加入 2 g CTAC、1.0 ml TEA 及 20.0 ml 去离子水,磁力搅拌 1 h 至其完全溶解,再将溶液置于 80℃ 油浴中加热并滴加 1.0 ml TEOS 继续反应 1 h,然后将 BTES 和 TEOS 各 1.0 ml 及 TCPP-APTES 0.3 ml 滴入上述溶液中继续反应 4 h,通过高速离心和乙醇洗涤后即得到 MSN@THMON。将 MSN@THMON 重新分散在 30.0 ml 含 1 wt% 氯化钠的甲醇溶液中搅拌 6 h 以去除残留的 CTAC;最后将 MSN@THMON 和氨水加入到 30.0 ml 超纯水中,于 95℃ 下反应 3 h,通过多次离心洗涤后即得到 THMON。

2. THMON 的表征检测:使用透射电子显微镜观察 THMON 形态;粒径电位分析仪检测其粒径和表面电位。能量色散光谱仪检测 THMON 中各化学元素分布情况,使用 ICP-MS 检测 THMON 中硅含量,具体方法为:取 0.1 ml THMON 加入 1.0 ml 浓硝酸至玻璃管中加热,待 THMON 完全溶解后加入 10.0 ml 3% 硝酸溶液,放入 EP 管中备用。

3. THMON 中 TCPP 的包封率和载药率计算:取适量 TCPP 用 DMF 溶解,分别配制成浓度为 0.25、0.5、1.0、2.0、3.0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准溶液,使用紫外-可见分光光度计检测其在 420 nm 处的吸光度,并绘制 TCPP 浓度与吸光度的标准曲线,建立线性回归方程。再以 DMF 为溶剂配制 THMON 溶液,使用紫外-可见分光光度计检测其吸光度,根据标准曲线计算 THMON 溶液中 TCPP 的包封率和载药率。进一步制备 THMON 和 TCPP 溶液(TCPP 含量均为 20 $\mu\text{g/ml}$),使用紫外-可见分光光度计检测 TCPP 的吸光度。

4. THMON 体外单线态氧产量检测:将 THMON 与 SOSG 混合配制成 THMON 浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 的溶液,对其进行超声辐照(声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm²,时间 0~300 s),使用荧光分光光度计检测 SOSG 的单线态氧并获取荧光强度。

5. 体外超声显影实验:以琼脂糖凝胶为原料制作带孔凝胶模型,将不同浓度(0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/ml)的 THMON 溶液置于凝胶模型中,使用二维超声观察其显影情况并采集图像,DFY 定量分析仪检测其回声强度。

6. 细胞吞噬实验:将 U87MG 接种于共聚焦皿中(每孔 1×10^4 个,均匀分布),待细胞贴壁后替换培养基为含 THMON 的 DMEM 溶液(200 $\mu\text{g/ml}$, 1.0 ml),与细胞共孵育 2、3、7 h, PBS 溶液洗涤 3 次以去除未被吞噬

的颗粒,每孔加入 1.0 ml Hoechst 33342 活细胞染色液将细胞核染色 10 min, PBS 溶液洗涤 3 次,使用激光扫描共聚焦显微镜观察 THMON 在细胞内的分布情况。

7. 细胞毒性实验:取对数生长期 U87MG 接种于 96 孔板内(每孔 1×10^4 个,均匀分布),于 37℃、5% CO₂ 恒温箱中孵育 24 h 贴壁。将不同浓度的 THMON 溶液(10、20、40、80、160、320 $\mu\text{g/ml}$)与细胞共孵育 24 h, PBS 溶液洗涤 3 次,然后每孔加入培养基 110 μl (含 CCK-8 检测液 10 μl),孵育 2 h 后检测其在 450 nm 处的吸光度。将上述不同浓度的 THMON 溶液与细胞共孵育 24 h 后进行超声辐照(声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm²,时间均为 30 s),再孵育 2 h,采用 CCK8 法检测细胞存活率。

8. 体内安全性实验:将 200 μl THMON 溶液(浓度为 0.5 mg/ml)和等量生理盐水分别经尾静脉注入 BALB/c 小鼠体内(设为实验组和对照组,每组各 3 只),14 d 后收集血液样本进行血常规、肝肾功能检测,观察 THMON 在 BALB/c 小鼠体内的安全性。

三、统计学处理

应用 SPSS 27.0 统计软件进行数据分析。计量资料采用 Kolmogorov-Smirnov 检验进行正态性检验,符合正态分布者以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,方差齐时两组比较采用 LSD 检验,方差不齐时两组比较采用 Tamhane T2 检验;不符合正态分布者以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,采用 Mann-Whitney U 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、THMON 的表征

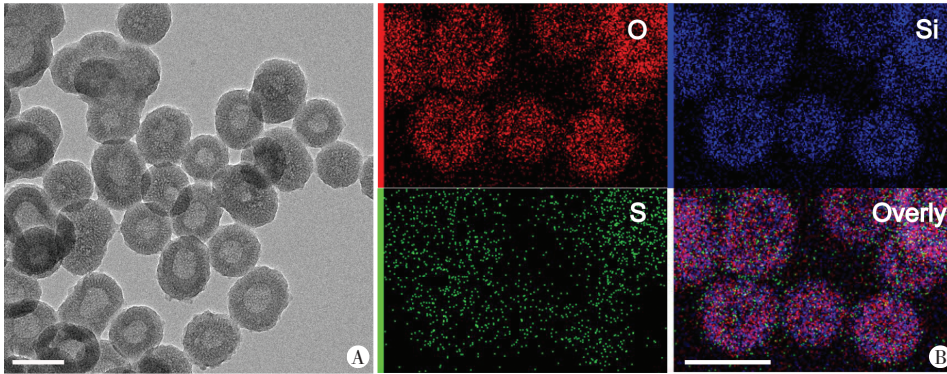
透射电子显微镜显示 THMON 呈单个分散的球形,大小均一,表面可见清晰孔道,中心呈中空结构;平均粒径为 $(121.5 \pm 24.3) \text{ nm}$,平均电位为 $(-78.5 \pm 1.1) \text{ mV}$ 。能量色散光谱仪显示 THMON 中可见氧、硫、硅元素存在,提示中空介孔有机硅分子探针制备成功。ICP-MS 检测显示,THMON 中硅含量为 0.84 mg/ml。见图 1。

二、THMON 中 TCPP 的包封率及载药率

紫外-可见吸收光谱显示,TCPP 和 THMON 出现了相同的吸收峰(图 2A),表明 TCPP 成功装载入 THMON。通过检测不同浓度 TCPP 紫外-可见吸收光谱(图 2B),根据 TCPP 在 420 nm 处的吸收峰值建立线性回归方程(图 3),得出 THMON 溶液中 TCPP 的包封率和载药率分别为 35.9%、3.0%。THMON 和 TCPP 溶液在 420 nm 处的吸光度分别为 2.54 a.u. 和 0.43 a.u.,差异有统计学意义($P < 0.001$)。

三、THMON 体外单线态氧产量检测结果

体外单线态氧产量检测显示,随着超声辐照强度



A: THMON 透射电子显微镜下观; B: THMON 能量色散光谱图。标尺为 100 nm

图 1 THMON 的表征

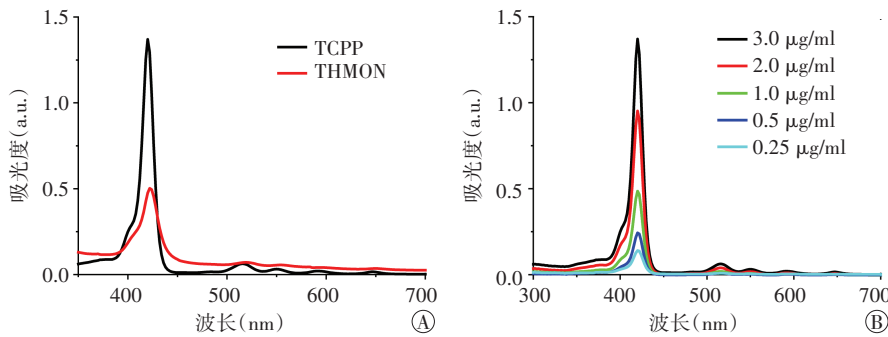


图 2 TCPP 和 THMON 紫外-可见吸收光谱图(A)及不同浓度 TCPP 紫外-可见吸收光谱图(B)

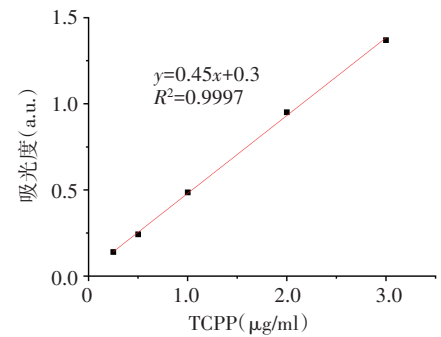


图 3 TCPP 的线性回归图

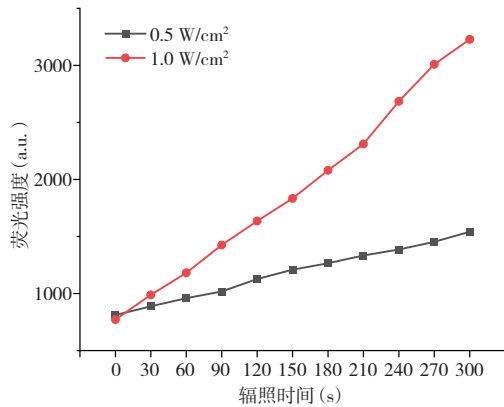


图 4 THMON 在不同超声辐照条件下的 SOSG 荧光强度变化趋势图

激光扫描共聚焦显微镜显示红色荧光紧密围绕着 U87MG 细胞核,且随着孵育时间的延长 THMON 红色荧光信号逐渐增多。见图 6。

六、细胞毒性实验结果

细胞毒性实验显示,在无超声辐照条件下,THMON 溶液浓度为 320 µg/ml 时细胞存活率为 (80.71±8.54)%,

的增加及时间的延长, SOSG 的荧光强度逐渐增强。见图 4。

四、体外超声显影能力

体外超声显影实验发现,随着 THMON 溶液浓度的增加 (0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/ml),其超声显影能力逐渐增强,回声强度分别为 22.00、23.30、29.00、39.00、43.67、62.00、68.67 a.u.。见图 5。

五、细胞吞噬实验结果

细胞活性未受明显影响;在声强 0.5 W/cm²、时间 30 s 超声辐照条件下, THMON 溶液浓度 ≤80 µg/ml 时细胞存活率为 (94.37±3.69)%~(100.57±9.63)%,浓度为 160、320 µg/ml 时细胞存活率分别为 (68.13±6.64)%、(55.46±5.31)%;在声强 1.0 W/cm²、时间 30 s 超声辐照条件下,细胞存活率随着 THMON 溶液浓度增加而逐渐下降,当 THMON 溶液浓度为 320 µg/ml 时,细胞存活率为 (41.21±7.35)%;无超声辐照与超声辐照条件 (声强 0.5 W/cm²、1.0 W/cm²,时间均为 30 s) 下 THMON 溶液浓度为 20~320 µg/ml 时细胞存活率比较差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。见表 1。

七、体内安全性实验结果

注射 THMON 溶液后,实验组和对照组小鼠丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、血清白蛋白 (ALB)、血尿素氮 (BUN)、白细胞计数 (WBC)、红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、血小板计数 (PLT) 均处于正常范围,两组比较差异均无统计学意义。见表 2。

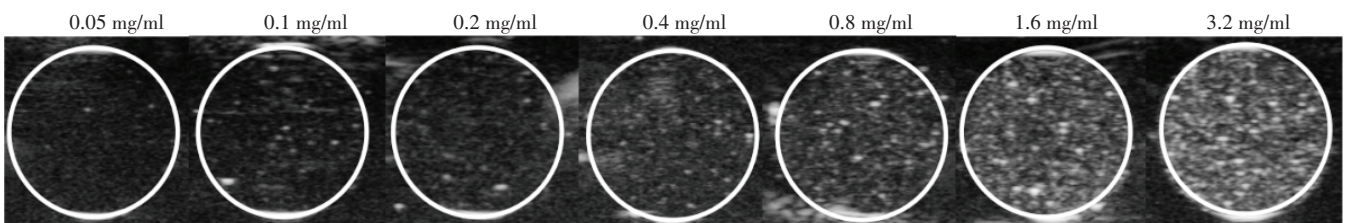


图 5 不同浓度 THMON 溶液体外超声显影图

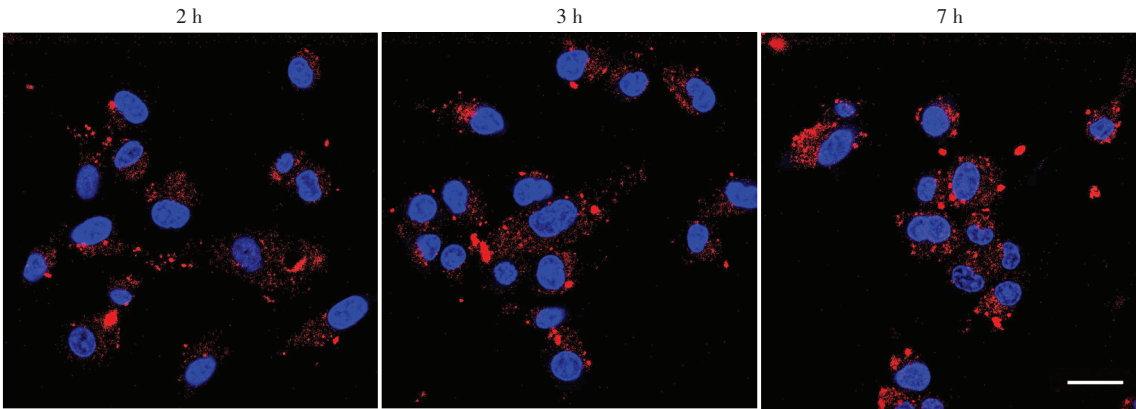


图6 U87MG与THMON共孵育2、3、7 h的激光扫描共聚焦显微镜下观(蓝色示细胞核;红色示THMON;标尺为20 μm)

表1 不同浓度THMON溶液在不同超声辐照条件下细胞存活率比较($\bar{x}\pm s$) %

分类	10 μg/ml	20 μg/ml	40 μg/ml	80 μg/ml	160 μg/ml	320 μg/ml
无超声辐照THMON	99.47±2.91	97.19±3.59	103.16±6.59	99.44±3.17	96.46±2.63	80.71±8.54
THMON+超声辐照(0.5 W/cm ² , 30 s)	95.16±2.35	94.37±3.69	100.57±9.63	99.81±5.44	68.13±6.64*	55.46±5.31*
THMON+超声辐照(1.0 W/cm ² , 30 s)	83.76±13.44	81.98±4.68*#	67.83±3.86*#	63.39±13.01*#	60.73±11.19*#	41.21±7.35*#
F值	6.12	24.47	46.23	37.74	36.28	46.39
P值	>0.05	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与无超声辐照THMON比较,* $P<0.01$;与THMON+超声辐照(0.5 W/cm², 30 s)比较,* $P<0.05$

表2 两组小鼠血常规和肝肾功能指标比较[$M(Q_1, Q_3)$]

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALB(g/L)	BUN(mg/dl)	WBC($\times 10^9/L$)	RBC($\times 10^{12}/L$)	HGB(g/L)	PLT($\times 10^{10}/L$)
对照组	42.0(40.5, 43.5)	171(133, 178)	54(48, 54)	18(16, 21)	7.60(7.45, 7.93)	11.60(10.86, 11.96)	174(163, 176)	88.8(86.8, 92.2)
实验组	25.0(24.5, 36.5)	152(136, 187)	45(43, 46)	20(20, 22)	5.40(5.30, 6.06)	9.56(6.14, 9.68)	164(157, 172)	117.4(116.2, 125.0)
Z值	-0.655	-0.218	-0.899	-0.899	-1.964	-1.964	-0.218	-1.964
P值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

ALT:丙氨酸氨基转移酶;AST:天冬氨酸氨基转移酶;ALB:血清白蛋白;BUN:血尿素氮;WBC:白细胞计数;RBC:红细胞计数;HGB:血红蛋白;PLT:血小板计数

讨 论

脑胶质瘤因预后不佳、复发率高严重威胁人类健康,给社会带来沉重的经济负担。尽管肿瘤治疗策略不断更新发展,但在治疗可及性、操作便捷性、患者耐受性及副作用控制等方面仍存在局限,阻碍了彻底清除病灶,增加了肿瘤复发风险^[7]。在此背景下,将外部刺激与功能性生物材料相结合的治疗思路为肿瘤治疗提供了新方向。光、声等外源刺激凭借转化潜力大、无创、可行性高等优势成为备受关注的研究热点。其中,声动力疗法通过产生大量活性氧,诱导肿瘤细胞凋亡,实现原位肿瘤清除,是一种极具前景的无创治疗技术^[8-9]。得益于超声波出色的组织穿透能力,声动力疗法能够有效作用于深部肿瘤组织,扩大了其应用范围;同时还可通过调节外部刺激参数,灵活调整治疗方式,为实现精准化、个性化治疗提供了帮助。超声作为一种无创、实时的显影技术,能够为声动力疗法提供精准引导,二者结合可进一步提升肿瘤治疗

的安全性和有效性。现有声敏剂多由有机小分子组成,由于水溶性差、体内循环时间短等因素导致其在肿瘤组织中的富集率较低^[10]。卟啉类衍生物是最常用的声敏剂,因具有良好的生物安全性而被广泛应用于声动力疗法研究中^[11],但其为疏水物质,卟啉分子间易形成 $\pi-\pi$ 共轭,从而引起聚集荧光淬灭(aggregation caused quenching, ACQ)效应,导致生物利用度较低和皮肤光毒性等问题^[12]。如何最大限度地降低卟啉类衍生物的ACQ效应并提高活性氧生成是当前研究的重难点。本实验通过制备卟啉杂化的中空介孔有机硅分子探针THMON,将TCPP杂化入THMON以改善TCPP的生物利用度,降低ACQ效应,可更好地实现声动力作用,在肿瘤治疗中具有极大的应用潜力。

本实验制备的THMON呈均一球形,分散性好,中空介孔结构清晰,平均粒径为(121.5±24.3)nm,平均电位为(-78.5±1.1)mV;能量色散光谱仪显示THMON中可见氧、硫、硅元素存在,硫元素的存在提示其能够在

体内微环境中有效降解。ICP-MS 检测显示, THMON 中硅含量为 0.84 mg/ml; THMON 溶液中 TCPP 的封装率和载药率分别为 35.9%、3.0%。通过观测相同 TCPP 浓度下 THMON 和 TCPP 溶液的紫外-可见吸光度, 发现 THMON 溶液在 420 nm 处的吸光度是 TCPP 溶液的 5.9 倍(2.54 a.u. vs. 0.43 a.u.), 表明 THMON 显著增强了 TCPP 的水溶性。THMON 体外单线态氧产量检测显示随着超声辐照时间的延长及辐照强度的增加, SOSG 的荧光强度逐渐增强, 表明 THMON 具有优异的声动力性能。TCPP 为难溶于水的声敏剂, 本实验将其杂化入 THMON 改善了 TCPP 的生物相容性, 通过形貌控制和功能化中空介孔有机硅分子探针, 从空间尺度上精细调控卟啉分子间的距离和位置, 降低卟啉的 ACQ 效应, 由此提高活性氧生成, 增强声动力疗效。本实验体外超声显影结果显示, 回声强度随 THMON 溶液浓度的增加而逐渐增强, 表明 THMON 具有良好的二维超声显影能力, 在一定浓度范围内可增强超声显影。由于 TCPP 可显示红色荧光, 本实验进一步将 THMON 与 U87MG 共孵育并观察 THMON 的荧光强度, 结果显示随着孵育时间的延长, U87MG 细胞核周围 THMON 红色荧光信号逐渐增多, 表明 U87MG 能够吞噬 THMON, 使得 THMON 的肿瘤细胞内递送成为可能, 从而提高声敏剂递送效率和肿瘤治疗效果。细胞毒性实验结果显示, 无超声辐照的 THMON 溶液在 320 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内对 U87MG 无明显毒性, 表明 THMON 对细胞活性无明显影响。为了验证声动力疗效, 本实验采用 CCK-8 法检测超声辐照后 U87MG 细胞存活率, 结果显示 THMON 的声动力杀伤效应随着超声强度的增加和分子探针浓度的增加而增强, 表明 THMON 可在超声辐照下产生活性氧并有效杀伤脑胶质瘤细胞, 为脑胶质瘤的诊疗一体化提供了一种新策略。本实验体内安全性实验结果显示, 注射 THMON 溶液后实验组和对照组小鼠血常规及肝肾功能指标均处于正常范围, 两组比较差异均无统计学意义, 表明 THMON 具有良好的体内安全性。

本实验的局限性: ①THMON 的制备工艺较复杂、步骤繁琐, 存在可控性较差、临床转化困难等不足, 后续仍需对制备方法进一步优化改进; ②本实验验证的声动力疗效是在有氧条件下进行的, 而声动力疗法的主要机制是利用超声触发声敏剂与周围氧分子发生反应, 产生活性氧引起氧化应激, 从而导致细胞死亡, 因此今后还需进一步验证缺氧条件下 THMON 的声动

力作用, 以全面评估 THMON 的声动力疗效, 为临床治疗转化提供坚实基础。

综上所述, 本实验成功制备了 THMON, 其不但可有效增强体外超声显影能力, 还具有显著的声动力治疗效果, 为 THMON 应用于脑胶质瘤声动力治疗领域提供了可靠的理论依据, 展现出 THMON 在该治疗方向上具备潜在的临床转化价值及广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Wang LM, Englander ZK, Miller ML, et al. Malignant glioma[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1405: 1-30.
- [2] Weller M, Wen PY, Chang SM, et al. Glioma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2024, 10(1): 33.
- [3] 陈丰萍. 病毒状介孔硅用于脑胶质瘤近红外二区荧光显影和治疗研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2023.
- [4] Cuadrado CF, Lagos KJ, Stringasci MD, et al. Clinical and pre-clinical advances in the PDT/PTT strategy for diagnosis and treatment of cancer[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2024, 50: 104387.
- [5] Sun Y, Chen Y, Wu B, et al. Synergistic SDT/cuproptosis therapy for liver hepatocellular carcinoma: enhanced antitumor efficacy and specific mechanisms[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 762.
- [6] Kong X, Yang Y, Ren X, et al. External stimuli-triggered photodynamic and sonodynamic therapies in combination with hybrid nanomicelles of ICG@PEP@HA: laser vs. ultrasound[J]. *Nanoscale*, 2024, 16(15): 7547-7558.
- [7] Krauss P, Colosimo M, Wolfert C, et al. Resection with intraoperative radiotherapy vs. adjuvant radiotherapy in the treatment of eloquent brain metastases: an analysis of feasibility and safety[J]. *Neurosurg Rev*, 2025, 48(1): 385.
- [8] Zhang H, Wang Y, Jiang M, et al. Inherently anti-metastatic peptide hydrogels for sonodynamic-amplified ferroptosis in cancer therapy[J]. *Mater Today Bio*, 2025, 32: 101688.
- [9] Chen Z, Sang L, Qixi Z, et al. Ultrasound-responsive nanoparticles for imaging and therapy of brain tumors[J]. *Mater Today Bio*, 2025, 32: 101661.
- [10] Nguyen VN, Nguyen Cao TG, Jeong H, et al. Tumor-targeted exosome-based heavy atom-free nanosensitizers with long-lived excited states for safe and effective sono-photodynamic therapy of solid tumors[J]. *Adv Healthc Mater*, 2025, 1: e2500927.
- [11] Yang M, Hu Y, Hao X, et al. Ultrasound-actuated ion homeostasis perturbator for oxidative damage-augmented Ca^{2+} interference therapy and combined immunotherapy[J]. *Mater Today Bio*, 2025, 32: 101666.
- [12] Zheng N, Li X, Huangfu S. Linear and high-molecular-weight porphyrins for efficient photodynamic therapy[J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(13): 4630-4638.

(收稿日期: 2025-03-01)