

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.03.008

透明质酸钠可溶微针的制备及性能特征*

周俊¹, 胡犇², 戢力维², 冯露¹, 杨林^{1△}

(1. 四川大学华西医院药剂科, 四川 成都 610041; 2. 四川大学华西医院线粒体与代谢实验室, 四川 成都 610041)

摘要:目的 探讨透明质酸钠(SH)微针的制备方法并考察其性能特征。方法 利用聚二甲基硅氧烷微针模具制备SH微针,采用离心注模和恒温干燥的方式,根据微针针尖的填充完整性、成型性及基底平整度筛选适宜分子量的SH,并优选最佳制备工艺。采用封口膜穿刺试验测试微针的机械性能,选取制备的空白SH微针进行小鼠体内溶解实验,测试体内溶解度。结果 以10%SH(相对分子质量为200 000~400 000)作为针尖基质,10%SH(相对分子质量为10 000~100 000)作为基底基质,4℃离心(转速为4 200 r/min)30 s,共离心3次,40℃恒温干燥2.0 h,制得的微针片基平整,针型完好,刺入小鼠皮肤后10 min内微针针尖完全溶解。结论 该SH微针制备方法切实可行,且工艺流程简单,制得SH微针的性能良好。

关键词:透明质酸钠;微针;性能特征;可溶解性;制备工艺

中图分类号:R944.1¹

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)03-0026-05

Preparation and Property Characterization of Sodium Hyaluronate Soluble Microneedles

ZHOU Jun¹, HU Ben², JI Liwei², FENG Lu¹, YANG Lin¹

(1. Department of Pharmacy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041; 2. Laboratory of Mitochondrial and Metabolism, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041)

Abstract: **Objective** To investigate the preparation method of sodium hyaluronate (SH) microneedles and its property characterization. **Methods** SH microneedles were prepared by polydimethylsiloxane (PDMS) microneedle mold. Through the centrifugal injection mold and constant temperature drying, the SH with appropriate molecular weight was selected and the best preparation process was optimized according to the filling integrity and formability of microneedle tips and the smoothness of the base. The mechanical properties of microneedles were tested by sealing membrane puncture test, and the prepared blank

*基金项目:四川省中医药管理局科学技术研究专项项目[2018KF014]。

第一作者:周俊,大学本科,主管中药师,研究方向为中药临床合理应用与中医药制剂开发,(电子信箱)735506441@qq.com。

△通信作者:杨林,硕士,副主任药师,研究方向为中药临床合理应用与医院制剂的研究与开发,(电子信箱)1550010063@qq.com。

的儿科药学服务体系,更有针对性地解决儿童用药安全问题,确保其用药安全^[14-15]。同时,药师应明确自身定位,发扬优势,弥补劣势,抓住机遇,直面威胁,积极探索多元化的药学服务模式,为促进儿童合理用药和保障用药安全提供参考。

参考文献

- [1] 合理用药国际网络中国中心组临床安全用药组,中国药理学学会药源性疾病专业委员会,中国药学会医院药专业委员会,等. 儿科人群用药错误防范指导原则[J]. 药物不良反应杂志,2018,20(5):324-328.
- [2] 杨娜,胡思源. 儿童疾病负担及药物研发需求浅析[J]. 药物评价研究,2016,39(3):329-334.
- [3] 王萍萍,陈晓瑾,廖莉,等. 儿科临床药师开展全程药学服务的SWOT分析[J]. 医院管理论坛,2019,36(12):43-45.
- [4] 管钰,刘彤,刘洋,等. 用药指导标签用于门诊药学服务效果分析[J]. 中国药业,2020,29(16):40-43.
- [5] BATCHELOR HK, MARRIOTT JF. Paediatric pharmacokinetics: key considerations[J]. British Journal of Clinical Pharmacology, 2015,79(3):395-404.
- [6] 石双姣,沈志莹,段应龙,等. 儿童居家用药安全的研究进展[J]. 护理学杂志,2019,34(1):95-99.
- [7] 孙坤,艾超. 医院门诊前置处方审核分析及改进[J]. 中国药业,2017,26(22):92-95.
- [8] 董迪,宋菲,张丽芳,等. 我院106例儿童患者用药错误的回顾与分析[J]. 实用药物与临床,2019,22(8):863-866.
- [9] 杜广清,赵志刚,甄建存,等. 新医改收入格局下药师价值与归属的探讨[J]. 中国医院,2013(4):67-69.
- [10] 王雪韵,苏巍巍,丁宏,等. 我国儿童药品在临床使用中存在的问题及对策分析[J]. 中国药房,2019,30(2):149-153.
- [11] 陈威,于西全. 新医改后我院门诊药房药学服务转型模式探讨[J]. 实用药物与临床,2018,21(3):350-353.
- [12] 王瑞麟,高理想,潘梦媛,等. “互联网+”背景下药品信息传导模式发展现状分析[J]. 中国药业,2020,29(2):4-6.
- [13] 国家药品不良反应监测中心. 国家药品不良反应监测年度报告(2019年)[EB/OL]. (2020-04-20)[2021-01-03]. http://www.cdr-adr.org.cn/drug_1/aqjs_1/drug_aqjs_sjbg/202004/t20200420_47318.html.
- [14] 米清仙. 儿童用药现状及思考[J]. 中国药物与临床,2017,17(1):136-138.
- [15] 肖坚,刘可可,黄娅敏,等. 构建急诊儿童药学服务体系[J]. 临床药物治疗杂志,2019,17(5):87-89.

(收稿日期:2021-04-25;修回日期:2021-08-16)

microneedles were selected for the dissolution test in mice to test the solubility *in vivo*. **Results** The microneedle was prepared with 10% SH [relative molecular weight(M_r) was in the range of 200 000–400 000] as the needles matrix, 10%SH (M_r was in the range of 10 000–100 000) as the basal matrix, centrifugation at 4 °C for 30 s (the rotation rate was 4 200 r/min) with three times, constant temperature drying at 40 °C for 2.0 h, the prepared microneedle base was smooth and the needle shape was intact. The microneedle could be completely dissolved within 10 min after inserting into the mouse skin. **Conclusion** The preparation method of SH microneedle is feasible, the process flow is simple, and the property of SH microneedle is good.

Key words: sodium hyaluronate; microneedles; property characterization; solubility; preparation process

微针技术近年来发展迅速,已引起医学领域的广泛关注。微针结合了注射剂和透皮贴剂的优点,可做到无痛、精确、微创、快速、方便地给药^[1-2],根据功能分为固体微针、中空微针、涂层微针、水凝胶微针、可溶性微针五大类^[3-4]。聚合物的机械性能和生物相容性均较好,可在体内降解,不会引起机体的免疫反应,可根据不同强度和功能制作符合条件的微针^[5]。透明质酸钠(SH)是透明质酸(HA)的钠盐,是构成人体细胞的重要组成部分^[6]。纯HA制备的微针,硬度大,易脆,易断针,且不易脱模^[7]。复合HA微针柔韧性相对较好,采取真空注模和真空干燥的方法制备的微针成型效果一般,仍有断针、空针现象,且制备的微针为缓释微针^[8-9]。HA微针的制备工艺需摸索制备条件,有制备工艺采取真空注模方式,真空20 min,常温干燥24 h,微针制备耗时较长,且真空设备要求较高,在无真空设备条件下,摸索离心注模的方式和适宜的干燥方法可缩短微针制作时间,制备速溶微针。相较于HA的稳定性差、自由基敏感、机械强度差,SH的力学强度和稳定性均增强^[10]。SH的可降解性和生物相容性均好,进入皮肤不会引起炎症反应。查阅文献,目前尚无针对SH的离心注模方法,根据文献中其他基质的离心注模方式:离心机4 000 r/min离心10 min^[11]或3 000 r/min离心30 min^[12],SH基质全部脱离模具,进入EP管底部,无法填充模具,需寻找适合SH基质的微针制备方法。本研究中以SH为可溶性微针的基质,筛选了SH微针的最佳制备工艺,并考察了微针的机械性能和体内溶解性能,开发出一种机械性能好、可生物降解的速溶微针,为后期可溶性载药速溶微针的开发奠定基础。现报道如下。

1 仪器、试剂与动物

1.1 仪器

XTL-165型体视显微镜(凤凰光学股份有限公司);VORTEX 3型漩涡混匀器(艾卡<广州>仪器设备有限公司);ST16R型高速离心机、Heratherm OMS100通用型烘箱(赛默飞世尔科技<中国>有限公司);EVO 10型小型扫描电子显微镜(Carl Zeiss AG);SY-2230型恒温水浴摇床(美国精骐有限公司);Integra 10型超纯水机(成都宝赛思科技有限公司);聚二甲基硅氧烷(PDMS)微针模具(台州微芯医药科技有限公司,模具

编号为Y19,针高600 μm ,15×15阵列);100 μL 移液枪、1 000 μL 移液枪(法国Gilson公司);PM-996型Parafilm封口膜(美国Poli Science公司)。

1.2 试剂

SH[相对分子质量(M_r)为200 000~400 000、批号为20121746, M_r 为10 000~100 000、批号为20190107],购自华熙福瑞达生物医药有限公司;水为超纯水。

1.3 动物

SPF级C57BL6/J小鼠,雄性,8~10周龄,体质量为22~24 g,购自成都达硕实验动物有限公司,生产许可证号为SCXK(川)2020-030;饲养于标准清洁级环境,昼夜交替光照(12 h/12 h),标准饮食,自由进食、饮水。本研究符合美国国立卫生研究院《实验室动物使用指南》规定,并通过四川大学实验动物伦理委员会审查。

2 方法与结果

2.1 SH溶液制备

取10 mL超纯水,置15 mL塑料离心管中,缓慢加入称量的SH,漩涡1 min,放入恒温摇床(37 °C,1.0 h),SH完全溶解,离心(4 500 r/min)1 min,除去气泡,放入4 °C冰箱保存,备用。按上述方法分别配制 M_r 为10 000~100 000和200 000~400 000的10%SH溶液。

2.2 微针制备

用移液枪吸取100 μL 配制好的SH溶液,作为微针针尖部分,均匀平铺在聚二甲基硅氧烷微针模具上,放入离心机离心,使SH溶液填满微针模具针孔,再吸取400 μL 配制好的SH溶液,作为微针基底部分,均匀平铺在微针模具上。待微针完全干燥后脱模,即得。

2.3 针尖基质和离心条件筛选

将铺好SH溶液的微针模具放入离心机,设置离心温度为4 °C,转速为4 200 r/min,调节每次离心时间、离心次数、针尖部分基质,观察微针填充完整度、有无气泡,筛选离心填充微针的最佳条件。筛选结果为针尖部分基质选取10%SH(M_r 为200 000~400 000),离心温度4 °C,转速4 200 r/min,离心3次,每次30 s,可得到填充完好的微针。针尖基质和离心条件筛选结果见表1。

2.4 基底基质和干燥条件筛选

将针枪填充完整并加入基底溶液后,置40 °C恒温干燥箱中干燥,调节基底部分基质和干燥时间(见表2)。

表 1 微针针尖基质和离心条件筛选

Tab. 1 Screening of microneedle matrix and centrifugal conditions

针尖基质	离心时间 (min)	离心 次数	填充情况
10%SH (M_r 为 10 000~100 000)	10.0	1	全部脱离模具, 进入 EP 管底部
	5.0	1	全部脱离模具, 进入 EP 管底部
	2.0	1	全部脱离模具, 进入 EP 管底部
	1.0	1	填充 10% 针枪, 其余进入 EP 管底部
	0.5	1	填充 20% 针枪, 其余进入 EP 管底部
10%SH (M_r 为 200 000~400 000)	10.0	1	全部脱离模具, 进入 EP 管底部
	5.0	1	全部脱离模具, 进入 EP 管底部
	2.0	1	填充 5% 针枪, 其余进入 EP 管底部
	1.0	1	填充 30% 针枪, 其余进入 EP 管底部
	0.5	1	填充 50% 针枪, 部分在模具上
	0.5	2	填充 90% 针枪, 部分在模具上
	0.5	3	填充 100%

观察干燥情况, 根据针形、表面平整度选取最佳条件。由图 1 可知, 基底基质选取 10%SH(M_r 为 200 000~400 000) 干燥效果不好, 片基弯曲严重(见图 1 A 和图 1 B₁), 针尖被拉伸严重(见图 1 B₂); 基底基质选取 10%SH(M_r 为 10 000~100 000) 干燥均匀, 片基平整(见图 1 C₁), 针尖成型良好(见图 1 C₂)。根据图 1 和表 1, 筛选出最佳条件: 基底部分基质选取 10%SH(M_r 为 10 000~100 000), 干燥温度 40 ℃, 干燥 2.0 h。

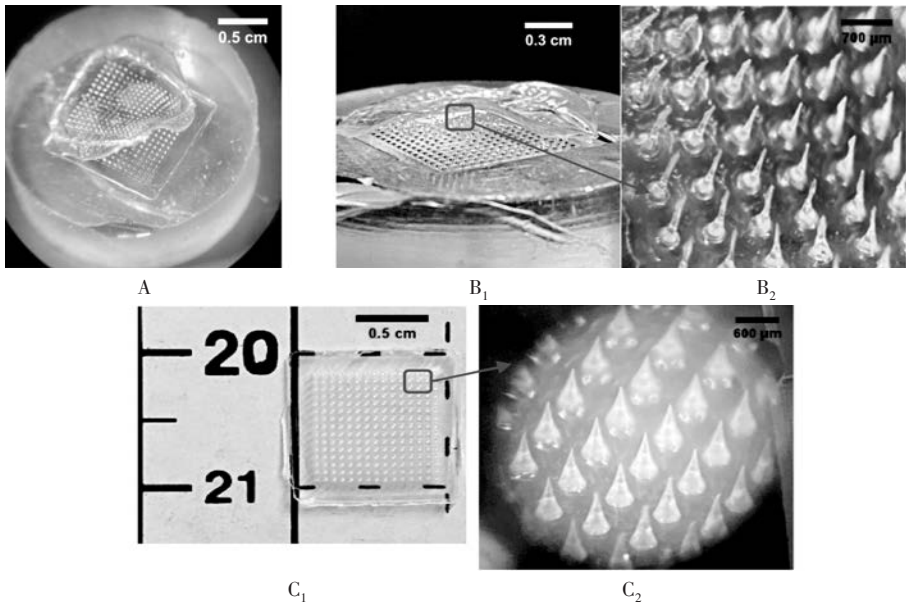
2.5 微针视觉形态评价

按最佳方法制备 SH 微针, 分别通过视觉直观、光学显微镜、扫描电镜进行观察, 详见图 2。制备的 SH 微针呈圆锥形, 根据扫描电镜图上的比例尺可大致得出每根微针高度约 600 μm, 基部宽度为 260 μm, 针尖成型良好, 针型完整, 无气泡, 无拉伸现象, SH 微针呈白色透明状, 整体上无空针、断针现象。

表 2 基底基质和干燥条件筛选

Tab. 2 Screening of basal matrix and drying conditions

基底基质	干燥温度	干燥时间			
		1.0 h	1.5 h	2.0 h	8.0 h
10%SH (M_r 为 10 000~100 000)	40 ℃	溶液状	片基平整, 四周干燥, 表面部分干燥, 干燥均匀	片基平整, 边缘轻微弯曲, 微针成型良好, 易揭膜, 100% 无断针	干燥过度, 片基弯曲严重, 影响贴片使用
10%SH (M_r 为 200 000~400 000)	40 ℃	溶液状	四周干燥, 中间溶液状, 干燥不均匀	周围干燥过快, 片基弯曲严重, 针尖被拉伸, 成型很差	干燥过度, 片基弯曲严重, 影响贴片使用

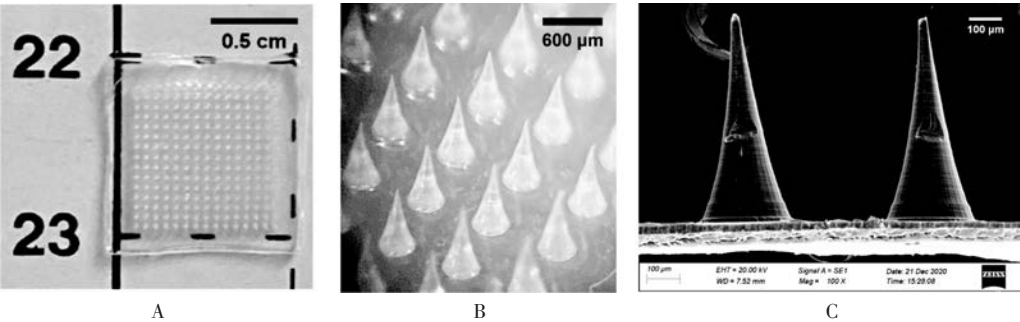


A. 基底基质为 10%SH(M_r 为 200 000~400 000)、干燥 2.0 h、微针未取下模具的正面 B₁–B₂. 基底基质为 10%SH(M_r 为 200 000~400 000)、干燥 2.0 h、微针未取下模具的侧面及微针局部放大 C₁–C₂. 基底基质为 10%SH(M_r 为 10 000~100 000)、干燥 2.0 h、微针的正面直观及微针局部放大

图 1 不同基底基质干燥 2.0 h 后 SH 微针直观图

A. The front image of the microneedle with basal matrix of 10%SH (M_r is in the range of 200 000 – 400 000) and drying for 2.0 h before it is removed from the mold B₁–B₂. The side image and partial enlargement image of the microneedle with basal matrix of 10%SH (M_r is in the range of 200 000 – 400 000) and drying for 2.0 h before it is removed from the mold C₁–C₂. The front image and partial enlargement image of the microneedle with basal matrix of 10%SH (M_r is in the range of 10 000–100 000) and drying for 2.0 h

Fig. 1 Horizontal images of SH microneedles with different basal matrixes after drying for 2.0 h

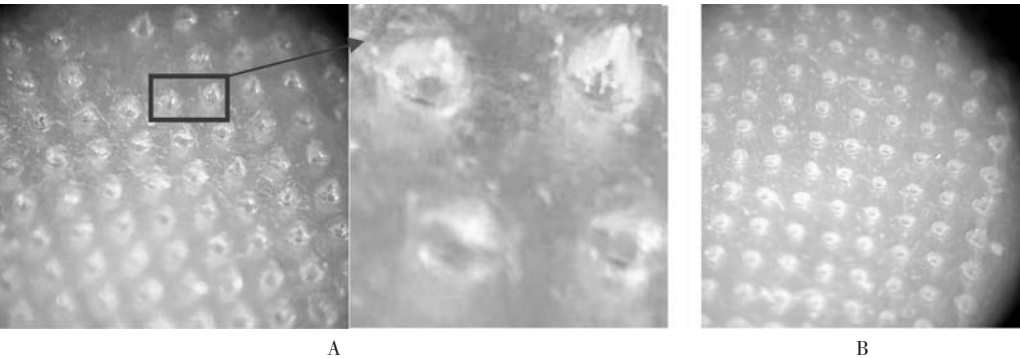


A. 正面直观图 B. 光学显微镜图 C. 扫描电镜图

图2 SH微针视觉形态

A. Front image B. Optical microscope image C. Scanning electron microscope image

Fig. 2 Visual morphology of SH microneedles



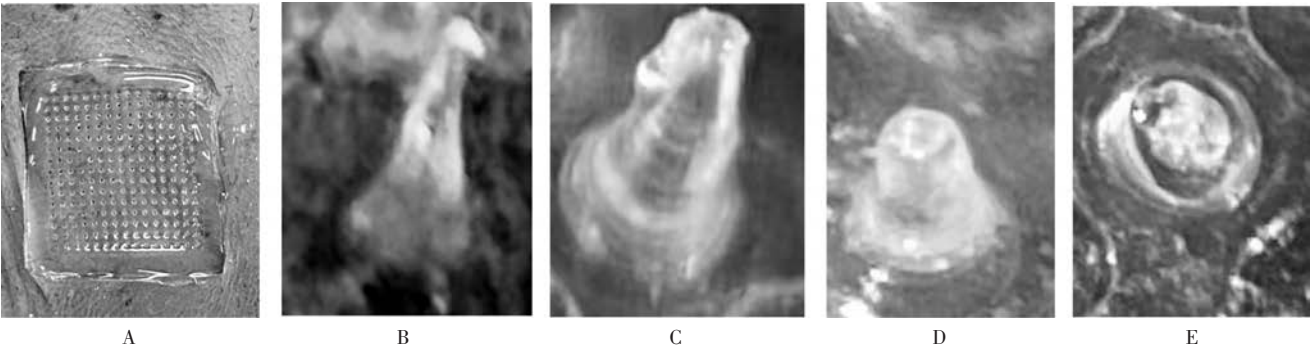
A. 封口膜背面(未取出封口膜上的微针)及局部放大 B. 封口膜正面(取出封口膜上的微针)

图3 SH微针封口膜穿刺试验结果

A. Backside image and partial enlargement image of the parafilm (microneedles on the parafilm has not been removed)

B. Front image of the parafilm (microneedles on the parafilm has been removed)

Fig. 3 Results of the puncture test of SH microneedle parafilm



A. 刺入小鼠腹部皮肤 B-E. 刺入小鼠皮肤后1,3,5,10 min时的针尖溶解状态

图4 SH微针体内溶解试验结果

A. Microneedles pierced the abdominal skin of the mouse B-E. Dissolution state of microneedles at 1,3,5 and 10 min after penetrating into mouse skin

Fig. 4 Results of the *in vivo* dissolution test of SH microneedles

2.6 微针机械性能测试

采用封口膜穿刺试验,考虑到皮肤具有弹性,故选用3层Parafilm 封口膜模拟皮肤。Parafilm 封口膜叠加的层数代表不同厚度的皮肤,本研究中以拇指用一定的力度,将微针垂直按压在封口膜上3 min后,显微镜下观察微针是否穿过封口膜和穿过封口膜微针数,评价微针的机械性能。微针针尖清晰可见,详见图3。

2.7 体内溶解试验

取C57BL6/J小鼠腹部皮肤脱毛,取按最佳方法制备的SH微针,拇指以一定力度按压,将SH微针垂直刺入皮肤,分别于1,3,5,10 min时拔出SH微针,并观察其在体内的溶解状态。由图4可知,制备的SH微针能穿透小鼠皮肤,且刺入皮肤10 min后的针体完全溶解;根据不同时间段拔出的SH微针针尖可以看出,微针插入

皮肤无断针,柔韧性好,不易断裂。

3 讨论

3.1 针尖基质选择

10%SH(M_r 为10 000~100 000)针尖基质较10%SH(M_r 为200 000~400 000)的黏度低,流动性强,离心过程中容易脱模而进入塑料离心管底部,填充效果差,故选取黏度相对更大、流动性相对更低的10%SH(M_r 为200 000~400 000)作为针尖基质,填充效果好。且以10%SH(M_r 为200 000~400 000)作为针尖基质制备的微针,针型完整,能100%脱模,无断针、空针现象;针尖强度良好,能穿破皮肤,相较于纯HA微针,SH微针插入体内无断针,柔韧性好,不易断裂;相较于复合HA微针,SH微针在体内10 min即可快速溶解,制备载药微针可达到快速释药的目的;若装载缓释微球,可制备快速溶解的缓释微针,且微针不用一直贴于皮肤表面,微针溶解后即可取下贴于皮肤表面的微针基底。仅需制备SH 1种基质即可,相较于复合基质,减少了药物与基质间的相互作用,SH溶液配制简便,耗时短,条件易控。

3.2 基底基质选择

10%SH(M_r 为200 000~400 000)基底基质在40℃下干燥,容易翘边,针尖部分还未干燥就被拉伸,造成针尖成型差,不利于微针的制备,可能是SH(M_r 为200 000~400 000)分子质量过大,微针受热不均匀造成。故选取分子量相对更小的10%SH(M_r 为10 000~100 000)作为基底基质制作微针,得到片基平整、针尖成型良好的SH微针。

3.3 制备工艺

针尖填充:温度4℃,离心转速4 200 r/min,离心3次,每次30 s。相较于其他针尖填充方法,如离心转速4 000 r/min、离心10 min^[11],转速3 000 r/min、离心30 min^[12],真空注模真空20 min^[13],超声注模超声30 min^[13],设备要求简单,操作简便,耗时短,填充效果较好。筛选的干燥方法:恒温干燥,温度40℃,干燥2.0 h。相较于其他微针干燥方法,干燥器干燥24 h^[12,14-15],本研究中筛选的方法简单,耗时短,干燥效果较好。

3.4 后期载药

本研究中制备的是空白微针,SH微针可快速溶解释药,溶解时间为10 min。后期可装载药物制备载药微针,装载可溶性药物,制备可溶性微针,可在刺穿皮肤后达到快速释药的效果;装载缓释微球,制备的微针可在刺穿皮肤时快速释放微球,微球在体内又可缓慢释药,同时可起到缓释给药的作用,且微针不用一直贴于皮肤表面。

3.5 制备方法评价

该微针制备工艺仅需离心机和烘箱即可,操作简

单,且微针制备耗时短,短时间内可制备多批次。制得的微针针型完整,100%脱模,无断针、空针现象;针尖韧性好,可刺穿皮肤,溶解快速。制备条件温和,制备过程中温度维持在4~40℃,利于载药过程中药物保持稳定,为后续可溶载药微针和中药载药微针的开发奠定了基础。

参考文献

- [1] INDERMUN S, LUTTGE R, CHOONARA YE, et al. Current advances in the fabrication of microneedles for transdermal delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2014, 185: 130–138.
- [2] CHONG RH, GONZALEZ – GONZALEZ E, LARA MF, et al. Gene silencing following siRNA delivery to skin via coated steel microneedles: *In vitro* and *in vivo* proof – of – concept [J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 166(3): 211–219.
- [3] ABIANDU I, ITA K. Transdermal delivery of potassium chloride with solid microneedles[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2019, 53: 101216.
- [4] SHENDE P, SARDESAI M, GAUD RS. Micro to nanoneedles: a trend of modernized transepidermal drug delivery system[J]. *Artificial Cells Nanomedicine Biotechnology*, 2018, 46(1): 19–25.
- [5] LHERNOULD MS, DELEERS M, DELCHAMBRE A. Hollow polymer microneedles array resistance and insertion tests [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 480(1/2): 152–157.
- [6] 陈世益, 王坤正, 李 箭, 等. 玻璃酸钠在骨科和运动医学相关疾病中的应用专家共识(2017年修订版)[J]. *中国医学前沿杂志: 电子版*, 2017, 9(11): 1–8.
- [7] 吴造展, 尹 芹, 陈丽竹, 等. 复合透明质酸微针制剂的制备及优化[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(2): 206–208.
- [8] 张 蓉, 沈炎冰, 苗晴晴, 等. 相转化水凝胶微针的制备和处方优化[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(22): 4213–4216.
- [9] 刘 姝, 权英淑, 神山文男, 等. 新型经皮传递胰岛素透明质酸微针制剂的制备及性能考察[J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(1): 6–10.
- [10] 苏江伟, 张 燕, 吴万福, 等. 交联透明质酸钠凝胶研究进展[J]. *山东化工*, 2020, 49(2): 75–79.
- [11] 陈 鑫, 张永萍, 徐 剑, 等. 雷公藤甲素自溶性微针的制备及体外经皮渗透性研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(20): 5278–5283.
- [12] 韩 珍, 曾 锐, 周 平, 等. 载胰岛素白及多糖可溶性微针柔性贴片的制备和初步评价[J]. *中草药*, 2021, 52(7): 1906–1913.
- [13] 杨明利, 徐群为, 李 泽, 等. 自溶性透明质酸微针的制备及性能表征[J]. *中国药学杂志*, 2020, 55(19): 1603–1608.
- [14] 张 博, 周 雪, 吴丽君, 等. 速溶性聚合物微针的制备及性能研究[J]. *华西药学杂志*, 2018, 33(2): 146–148.
- [15] 汪云霞, 宋信莉, 陈欢欢, 等. 马钱子碱双层聚合物可溶性微针的制备及其在不同载药方式下的体外经皮渗透性研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(17): 2112–2118.

(收稿日期: 2021–04–22; 修回日期: 2021–08–12)