雷公藤甲素脂质体微针治疗大鼠骨关节炎的药代动力学和药效学研究

孙精通[1#], 李净百[2,3#], 高榕波[2,3], 刘志东[2,3*]

(1. 天津中医药大学附属保康医院, 天津 300193; 2. 天津中医药大学中药学院, 天津 301617;
3. 天津中医药大学现代中药发现与制剂技术教育部工程研究中心, 天津 301617)

摘要: 骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 的局部精准治疗仍面临递送效率低与毒性高的双重挑战。本研究构建了载雷公藤甲素的脂质体微针 (triptolide liposome microneedles, TP-Lip-MNs) 递送系统。采用薄膜分散−超声法制备TP脂质体 (TP-Lip), 并通过微针模具浇筑−离心填充干燥技术优化微针制备工艺, 最终制得的TP-Lip-MNs载药量达每针63.49 μg, 单针机械强度为0.9 N, 药物在皮肤120 μm深度处释放量达到峰值。在药代动力学 (pharmacokinetics, PK) 研究中, 依托微渗析采样技术结合LC-MS/MS技术建立了大鼠膝关节腔微渗析液中TP的定量分析方法。结果显示, TP-Lip-MNs组的曲线下面积 ($AUC_{0\text{-}8\,h}$) 为156.80 ± 37.04 ng·h·mL^{-1}, 是TP-Lip组 (68.31 ± 5.92 ng·h·mL^{-1}) 的2.3倍; 峰值质量浓度 (C_{max}) 为66.35 ± 18.59 ng·mL^{-1}, 是TP-Lip组 (22.49 ± 2.36 ng·mL^{-1}) 的3.0倍, 显著提高TP在膝关节腔的药物扩散速率和吸收速率。在单碘乙酸钠诱导大鼠OA模型的药效学 (pharmacodynamic, PD) 评价中, 通过大鼠膝关节肿胀率、CT影像图得出TP-Lip-MNs对炎症引起的骨质增生具有抑制效果, 治疗组的IL-1β、IL-6、TNF-α含量有明显的下降趋势, 进一步验证了TP的抗炎效果。血清生化指标 (ALT、AST、BUN、CRE) 证明其具有良好的生物安全性。本研究通过“模型−递送−PK−PD”闭环设计, 为OA的局部治疗提供了兼具创新性与转化潜力的解决方案。动物实验经天津中医药大学动物实验伦理委员会批准 (No. TCM-LAEC2024125g1009)。

关键词: 骨关节炎; 雷公藤甲素脂质体; 微针; 药效学; 微透析药代动力学

中图分类号: R943 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)07-2703-12

Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of liposomal microneedling of triptolide in the treatment of osteoarthritis in rats

SUN Jing-tong[1#], LI Jing-bai[2,3#], GAO Rong-bo[2,3], LIU Zhi-dong[2,3*]

(*1. Baokang Hospital Affiliated to Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 3. Modern Traditional Chinese Medicine Discovery and Formulation Technology Engineering Research Center of the Ministry of Education, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China*)

Abstract: Local precision therapy for osteoarthritis (OA) still faces dual challenges of low delivery efficiency and high toxicity. This study constructed a triptolide liposome microneedles (TP-Lip-MNs) delivery system. TP liposomes (TP-Lip) were prepared by the thin-film dispersion-ultrasonication method, and the microneedle preparation process was optimized *via* microneedle mold casting-centrifugal filling-drying technology. The final TP-Lip-MNs exhibited a drug loading content of 63.49 μg per needle, a single-needle mechanical strength of 0.9 N, and a peak

收稿日期: 2025-06-03; 修回日期: 2025-08-19.
基金项目: 天津市教委科研计划项目 (2024ZD003).
#共同第一作者.
*通讯作者 Tel: 86-22-59596576, E-mail: lonerliuzd@163.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0625

drug release at a skin depth of 120 μm. In the pharmacokinetic (PK) study, a quantitative analysis method for TP in rat knee joint microdialysate was established using microdialysis sampling combined with LC-MS/MS. The results showed that the area under the curve ($AUC_{0-8\,h}$) of the TP-Lip-MNs group was 156.80 ± 37.04 ng·h·mL^{-1}, 2.3-fold higher than that of the TP-Lip group (68.31 ± 5.92 ng·h·mL^{-1}), and the peak concentration (C_{max}) was (66.35 ± 18.59 ng·mL^{-1}), 3.0-fold higher than that of the TP-Lip group (22.49 ± 2.36 ng·mL^{-1}), significantly enhancing the drug diffusion and absorption rates of TP in the knee joint. In the pharmacodynamic (PD) evaluation using a sodium monoiodoacetate-induced rat OA model, TP-Lip-MNs inhibited inflammation-induced bone hyperplasia as demonstrated by knee swelling rate and CT imaging. The treatment group showed a significant decrease in IL-1β, IL-6, and TNF-α levels after administration, further verifying the anti-inflammatory effect of TP. Serum biochemical indices (ALT, AST, BUN, CRE) confirmed its good biosafety. This study provides an innovative and translationally potential solution for local OA therapy through a "model-delivery-PK-PD" closed-loop design. The animal experiments were approved by the Ethics Committee for Animal Experiments of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine under the ethical review number TCM-LAEC2024125g1009.

Key words: osteoarthritis; liposomal triptolide; microneedle; pharmacodynamics; microdialysis pharmacokinetics

近年来, 随着全球人口老龄化进程的加速, 骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 作为一种以关节软骨退行性病变为核心病理特征的慢性疾病, 正日益成为中老年人群肢体功能障碍与致残的重要诱因[1]。目前临床治疗手段在延缓病程进展与改善患者预后方面仍存在局限, 亟需开发安全高效的新型治疗策略。雷公藤甲素 (triptolide, TP) 作为从传统药用植物雷公藤中提取的环氧二萜内酯类化合物, 其显著的免疫抑制、抗风湿及抗炎活性使其在OA治疗中展现出独特潜力[2]。然而, 该化合物存在体内清除速率快、水溶性差及全身毒性显著等固有缺陷, 严重制约了其临床应用转化[3]。

脂质体作为经典的纳米递送载体, 通过磷脂双分子层结构包裹药物, 可显著改善TP的水溶性和稳定性, 提高生物利用度, 降低全身毒性[4]。研究表明, 脂质体包载后, TP在血液中的半衰期延长近3倍, 有效减少给药频次。而微针 (microneedles, MNs) 技术凭借微米级针体穿透皮肤角质层的特性, 能实现药物的无痛经皮递送, 有效克服皮肤屏障限制, 提高局部药物浓度[5]。将脂质体与微针结合形成的脂质体微针, 兼具脂质体的药物包载优势和微针的靶向递送特性, 已在皮肤疾病、疫苗接种等领域展现出良好的应用前景[6]。例如, 在银屑病治疗中, 脂质体微针显著增强了药物在真皮层的渗透, 降低全身不良反应[7]。

基于此, 本研究针对TP临床转化的瓶颈问题, 拟开发TP脂质体微针 (triptolide liposome microneedles, TP-Lip-MNs) 递送系统。通过脂质体改善TP的药剂学性质, 结合微针实现关节局部的靶向给药, 以期优化药物释放行为、降低全身毒性[8]。后续将围绕制备工艺优化、药效学与药代动力学评价, 探索TP-Lip-MNs在OA治疗中的应用潜力, 为天然活性成分的局部给药制剂开发提供实验依据。

材料与方法

仪器 透皮仪 (DHC-6TD, 美国LOGAN公司); 高效液相色谱仪 (Er2489)、X-Brige C18色谱柱 (规格 250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 购自美国Waters公司; 分析天平 (New Classic MF, 美国Mettler Toledo公司); 可调式涂布器 (KTQ-II, 上海瞰翔仪器设备有限公司); 光学显微镜 (ECLIPSE Ci-E, 日本Nikon公司); 投影式光固化生物3D打印机 (BP8601P, 苏州永沁泉智能设备有限公司); Micro-CT (NMC-200, 平生医疗科技昆山有限公司); Micro-CT成像系统 (PE GX2, PerkinElmer公司)。

试药 蛋黄卵磷脂 (N01001, 上海艾伟拓医药科技有限公司); 胆固醇 (CC3561A-25g, 北京酷来博科技有限公司); 雷公藤甲素原料药 (BP1411, 西安嘉天生物科技有限公司); 氯仿 (3981, 天津市大茂化学试剂厂); 生理盐水 (2402222107, 石家庄四药有限公司); 雷公藤甲素标准品、纤维素透析袋 (B20709-100 mg、SP131273-0.5m, 上海源叶生物科技有限公司); 色谱甲醇、色谱乙腈 (221043、F22MB1201, 美国Fisher公司); 乌拉坦 (U820333-500 g, 麦克林试剂有限公司); 肌酐 (Cr) 测定试剂盒 (20241106, 南京建成生物工程研究所); 生化试剂盒 (E-BC-K236-M, Mindray公司); ELISA试剂盒 (SP10205, 武汉赛培生物科技有限公司)。

动物 SD大鼠 (雄性, 体重250～300 g), 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司提供, 实验动物使用许可证号: SCXK (京) 2024-0001; 所有动物实验均获得了天津中医药大学动物实验伦理委员会批准 (No. TCM-LAEC2024125g1009)。

分析方法的建立

色谱条件　使用Waters HSS T3色谱柱 (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm), 以甲醇−水 (73∶27, *v*/*v*) 为流动相进行等度洗脱, 柱温为35 ℃, 流速0.4 mL·min^{-1}, 进样量5 μL。对照品溶液制备: 精密称定雷公藤甲素对照品, 置于10 mL量瓶中, 使用甲醇溶解并定容至刻度, 制备质量浓度为1 mg·mL^{-1}的对照品储备液; 精密量取适量储备液, 置于100 mL量瓶中, 甲醇定容至刻度, 得到10 μg·mL^{-1}的对照品工作液, 于4 ℃冷藏保存。

质谱条件　采用电喷雾离子源, 以多重反应监测模式进行正离子扫描, 具体参数如下: 干燥气温度300 ℃, 干燥气流量11 L·min^{-1}, 雾化气为氮气, 雾化压力15 psi, 毛细管电压2.8 kV, 碎裂电压200 V, 碰撞电压135 V, 碰撞能量39 eV。

分别精密量取上述对照品储备液适量, 用甲醇稀释为16.22、32.45、64.91、129.81、259.63、519.25、1 038.5、2 077.0 ng·mL^{-1}的系列溶液, 测定峰面积。以峰面积 (*A*) 为纵坐标, 质量浓度 (*C*) 为横坐标绘制标准曲线。

雷公藤甲素脂质体制备　称取雷公藤甲素原料药、胆固醇及蛋黄卵磷脂, 按以下比例投料: 雷公藤甲素浓度1.1 mg·mL^{-1}、药脂比 (雷公藤甲素与蛋黄卵磷脂质量比) 24.0、胆脂比 (胆固醇与蛋黄卵磷脂质量比) 4.0, 将三者溶解于氯仿溶剂中, 采用旋转蒸发仪在减压条件下除去氯仿, 直至茄形瓶底部形成均匀类脂薄膜。随后加入定量生理盐水, 并投入小号玻璃珠辅助薄膜溶解, 于室温条件下水化1 h。将水化后的混合体系转移至超声波细胞破碎仪中, 在特定功率和时间参数下进行超声处理, 最终制得雷公藤甲素脂质体 (triptolide liposome, TP-Lip)[9]。

雷公藤甲素脂质体微针的制备工艺　采用薄膜分散法制备TP-Lip, 并基于PDMS微针模具 (微针阵列密度10 × 10, 针长1 800 μm, 针尖间距1 220 μm), 通过浇筑−离心填充干燥工艺制备TP-Lip-MNs。具体步骤如下: 首先, 称取300 mg透明质酸钠 (sodium hyaluronate, SA), 溶解于TP质量浓度为1 mg·mL^{-1} TP-Lip混悬液中, 经磁力搅拌至完全溶解并形成均匀体系。随后将混合液置于10 000 r·min^{-1}条件下离心10 min, 以去除体系内气泡。取0.4 mL脱气后的SA-TP-Lip混合溶液浇筑至预处理的微针模具中, 于3 000 r·min^{-1}转速下离心5 min, 使混合溶液均匀填充模具微针孔道。填充完成后, 将模具移至37 ℃烘箱干燥30 min, 继而转移至常温干燥器中固化24 h, 制得TP-Lip-MNs。

单因素考察

溶液黏度的考察　聚合物溶液浓度是影响微针成型质量与性能的关键因素。为明确SA添加量对SA-TP-Lip混合凝胶流变特性的调控作用, 本研究系统考察不同SA浓度条件下混合体系的黏度、流动性及涂展性变化规律, 以筛选获得适用于微针制备的最佳溶液黏度参数。

转速的影响　适宜的离心转速是保障SA-TP-Lip混合凝胶均匀填充微针模具的关键工艺参数[10]。在固定离心时间为5 min的条件下, 系统考察转速分别为1 000、2 000、3 000、4 000、5 000、7 000 r·min^{-1}时的微针成型质量, 以筛选出微针塑形的最优转速条件。

温度的影响　温度对材料的流动性、固化速度及药物稳定性等工艺特性具有显著影响。本研究考察烘干温度分别为30、37、45、50 ℃时对微针塑形效果的影响。

TP-Lip-MNs的表征

形态学表征　按照优化后的微针制备工艺制备TP-Lip-MNs, 采用光学显微镜 (optical microscope)、扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 对微针的针体形貌特征进行观察; 为直观评估脂质体药物在微针中的分布情况, 以荧光素钠 (fluorescein sodium, FS) 作为示踪剂替代TP载入微针体系, 借助激光共聚焦显微镜进行成像分析。

溶解性能　取SD大鼠膝关节皮肤, 剥离其下结缔组织与脂肪组织, 经生理盐水浸泡冲洗后, 用吸水纸吸干表面水分。将处理后的皮肤固定于泡沫板, 以适当力度将TP-Lip-MNs垂直刺入皮肤, 分别于5、10、15、20、25、30 min时间点取出微针, 置于光学显微镜下观察皮肤穿刺情况。

力学性能测试　采用HLD数显推拉力计对TP-Lip-MNs的力学性能进行表征[11]。将TP-Lip-MNs固定于测试台, 针尖朝上, 设定压力面板以0.1 mm·min^{-1}的速率向下移动, 同步记录传感器反馈的压力与位移数据。

穿刺性能考察　皮肤恢复性能考察大鼠经麻醉处理后, 使用TP-Lip-MNs以恒定压力按压背部皮肤5 min, 分别于按压后10、20、30及60 min采集皮肤表观照片, 观察穿刺部位的恢复情况。穿刺深度考察取SD大鼠膝关节皮肤组织, 经TP-Lip-MNs按压5 min后, 剪取微针刺入区域皮肤样本, 立即置于4%多聚甲醛溶液中固定48 h。随后进行石蜡包埋处理, 将组织块冷冻切片至200 μm厚度, 采用苏木素−伊红 (hematoxylin & eosin, H&E) 染色法对切片进行染色, 最后在光学显微镜下观察并评估微针穿刺深度及皮肤组织形态学变化。

药物皮下渗透能力考察　为探究脂质体药物在微针载体中的空间分布特性, 以FS作为TP的荧光示踪

替代物, 参照前期确立的微针制备工艺制得荧光素钠脂质体微针[12]。将制备的微针垂直插入SD大鼠膝关节皮肤表面, 通过定制夹具固定贴敷1 h后, 完整剪取微针刺入区域的皮肤组织, 随后按照实验动物伦理规范实施安乐死处死大鼠。获取的膝关节皮肤组织立即置于−80 ℃超低温环境中冷冻固定, 采用冷冻切片技术以15 μm层厚制备连续组织切片。将切片样本置于激光共聚焦显微镜载物台, 设置荧光素钠的激发波长为460 nm, 沿*X*-*Y*平面的*Z*轴垂直方向进行逐层扫描成像。通过仪器配套软件对各层面荧光信号进行实时采集与分析, 持续记录荧光分布图像直至检测不到特异性荧光信号为止, 以此量化评估荧光素钠在微针内部及皮肤组织中的渗透深度与空间分布规律。

稳定性考察　为验证TP-Lip经微针制备工艺处理后物理稳定性是否受影响, 采用以下方法进行考察: 将制备的TP-Lip-MNs定量复溶于生理盐水中, 经0.22 μm滤膜过滤去除微针基质残渣, 对复溶后的TP-Lip混悬液进行粒径分布检测与微观形态表征, 对比分析制备前后脂质体的物理稳定性变化。

载药量考察　取适量TP-Lip-MNs样品, 精密称定后定量溶解于1 mL蒸馏水中, 所得溶液经0.22 μm微孔滤膜过滤去除不溶性基质杂质。滤液转移至20 mL量瓶中, 加入甲醇至刻度线, 充分振荡使脂质体破乳释放药物, 按照色谱条件进行含量测定, 计算微针载药量。

经皮渗透实验　采用Franz扩散池系统对TP-Lip及TP-Lip-MNs进行体外经皮渗透实验。实验前, 参照扩散池有效渗透面积 (1.77 cm^2) 修剪SD大鼠背部皮肤, 确保鼠皮完全覆盖扩散池垫片以形成密闭渗透界面, 避免供试品溶液渗漏。将预处理的鼠皮固定于扩散池装置, 角质层朝上, 依次安装供给池与接收池。对于TP-Lip-MNs组, 将微针阵列垂直刺入鼠皮表面并持续按压5 min, 使微针与皮肤紧密贴合后固定于供给池; TP-Lip组直接将脂质体混悬液均匀涂布于鼠皮表面。接收池内注入10 mL生理盐水 (37 ℃预热) 作为接收介质, 设定恒温水浴温度为37 ℃, 磁力搅拌速率为200 $r·min^{-1}$以维持流体动力学稳定。按照预设时间点 (0、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、12、24 h) 从接收池取样2 mL, 同时立即补充等体积预热生理盐水以保持接收介质体积恒定。取样液经0.22 μm微孔滤膜过滤后, 取续滤液按色谱条件测定药物浓度, 根据公式 (1) 计算24 h内药物累计透过量 (*Q*):

$$Q_n = (P_n \times V + \sum_{i=1}^{n-1} ViPi)/A \quad (1)$$

其中, P_n为第*n*次取样时接收液中药物质量浓度, *V*为接收池体积, V_i为取样体积, P_i为第*i*次取样时接收液中的药物质量浓度, *A*为有效扩散面积。

体内药代动力学研究　取12只SPF级SD大鼠 (体质量200 ± 20 g), 按照随机数字表法均分为2组 (*n* = 6), 即TP-Lip-MNs组与TP-Lip凝胶组。采用20%乌拉坦溶液 (1 $g·kg^{-1}$, ip) 对大鼠进行麻醉处理, 固定于手术台后, 在无菌操作下将微渗析探针植入膝关节腔, 以生理盐水 (流速2 $μL·min^{-1}$) 持续灌注平衡1 h。给药操作如下: TP-Lip-MNs组于大鼠膝关节皮肤表面精准贴敷1枚载药微针 (含药量63.63 μg), TP-Lip凝胶组则在相同部位均匀涂抹0.5 mL TP-Lip凝胶 (含药量与微针组一致)。按照预设时间点 (0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、6、8 h) 收集膝关节腔透析液, 每次取样20 μL, 立即置于−80 ℃冻存待测。采用高效液相色谱方法测定透析液中TP浓度, 数据导入Phoenix WinNonlin 8.1药动学软件, 选择非房室模型分析血浆药物浓度−时间曲线, 计算主要药代动力学参数。

体内药效学研究

OA模型构建与分组处理　实验动物经适应性饲养后, 选取SD大鼠实施如下造模操作: 首先以碘伏对腹部皮肤消毒, 腹腔注射20%乌拉坦溶液 (1 $g·kg^{-1}$) 麻醉, 固定于手术台并充分暴露膝关节腔定位点。将碘乙酸钠 (monosodium iodoacetate, MIA) 配制成20 $mg·mL^{-1}$溶液, 采用1 mL无菌注射器垂直刺入大鼠膝关节腔 (进针深度约3 mm), 缓慢注射0.1 mL MIA溶液后, 轻柔反复拉伸膝关节5 min, 确保药物在关节腔内均匀分散。造模过程每日1次, 连续干预7天。

造模完成后, 依据随机数字表法从18只OA模型大鼠中选取6只作为模型组, 剩余12只均分为TP-Lip组 (*n* = 6) 与TP-Lip-MNs组 (*n* = 6); 另从空白SD大鼠群体中随机选取6只作为空白对照组。各组处理方式如下: 空白组: 不进行任何干预; 模型组: 每日关节腔内注射0.1 mL生理盐水; TP-Lip组: 关节腔注射含药量60 μg的TP-Lip溶液0.1 mL; TP-Lip-MNs组: 于膝关节对应皮肤表面精准贴敷1枚载药微针 (平均含药量63.49 μg)。治疗周期为14天, 每日给药1次, 其中TP-Lip组与TP-Lip-MNs组统称为治疗组。

膝关节肿胀度评价　采用精度0.02 mm游标卡尺, 分别于造模前 (第0天)、造模第7天、治疗第14天及停药后第7天 (第21天) 测量大鼠膝关节最大横径, 根据公式 (2) 计算肿胀度:

膝关节肿胀度 = (造模后膝关节宽度 − 造模前膝关节宽度)/造模前膝关节宽度×100%　(2)

其中, 第0～7天为模型构建期, 第7～21天为药物干预观察期。

膝关节软骨CT影像学评价　给药治疗14天结束后, 分离并取出SD大鼠后肢胫骨−股骨连接部 (含膝关节) 标本。剔除标本表面多余肌肉组织后, 置于4%多聚甲醛溶液中固定。固定完成后, 采用Micro-CT系统对标本进行扫描成像, 利用Recon三维重建软件对原始扫描图像进行重建处理, 通过重建图像观察并分析大鼠膝关节软骨的损伤形态及程度。

膝关节组织学评价　取上述固定后的大鼠膝关节标本, 经脱钙处理后, 按照常规石蜡切片制备流程进行梯度脱水、透明、浸蜡及包埋操作, 随后进行连续切片, 备用。将制备好的石蜡切片进行苏木精−伊红 (H&E) 染色, 甲苯胺蓝染色, 番红固绿染色, 染色后通过光学显微镜观察。给药治疗14 d结束后, 采用20%乌拉坦溶液对各组SD大鼠进行全身麻醉, 对大鼠腹部进行消毒及脱毛处理, 无菌条件下剪开腹部肌肉组织, 暴露腹腔并分离腹主动脉, 采用一次性负压采血管进行腹主动脉采血。采集的血样置于室温静置1～2 h后, 转移至4 ℃冰箱中静置12 h, 使凝血块充分固缩。随后将血样置于离心机中, 以5 000 r·min^{-1}转速离心10 min, 离心完成后吸取上清液, 分装于1.5 mL EP管中, 置于−80 ℃超低温冰箱中冻存备用。严格按照大鼠白细胞介素1β (IL-1β) ELISA检测试剂盒、大鼠白细胞介素6 (IL-6) ELISA检测试剂盒及大鼠肿瘤坏死因子α (TNF-α) ELISA检测试剂盒说明书的操作步骤, 检测血清中IL-1β、IL-6及TNF-α的含量。采用AST试剂盒 (Mindray)、ALT试剂盒 (Mindray)、CRE试剂盒、BUN试剂盒 (Mindray) 在自动分析仪下检测大鼠血清中AST、ALT、CRE、BUN等生化指标含量。

统计学方法　采用GraphPad Prism 10.1.2软件通过单因素方差分析对数据进行统计学分析。数据以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$表示有统计意义。

结果

1　单因素考察

1.1　溶液黏度对微针成型的影响

溶液黏度特性考察结果显示, 向TP-Lip混悬液中添加SA后, 混合体系呈凝胶状且具备可控流动性。基于TM-12微针模具的几何参数 (单孔容积固定), 实验固定TP-Lip混悬液体积为1 mL, 系统考察SA添加量对混合凝胶填充性能的影响: 当SA用量不足时, 混合体系黏度较低 (< 200 mPa·s), 流动性过强, 高速离心过程中填充物易在模具表层发生偏移并溢出针孔阵列区域, 导致微针尖端结构缺失或整体坍塌; 当SA用量过高时 (> 400 mg), 体系黏度过大 (> 4 000 mPa·s), 流动性显著下降, 凝胶无法在离心力作用下充分渗透至模具针体底部, 造成微针根部充盈不全或中空缺陷。

经综合评估黏度−流动性−涂展性的协同作用[13], 当SA添加量为300 mg时, 混合凝胶黏度为1 690 mPa·s, 既满足离心填充过程中对模具孔道的完整浸润, 又可避免溢出或中空现象。该优化条件下的微针外观均一、针尖锋利度及机械强度符合后续实验要求, 最终确定SA最佳用量为300 mg, 具体实验结果见表1。

1.2　离心转速对微针塑型的影响

在固定离心时间为5 min的条件下, 分别考察1 000、2 000、3 000、4 000、5 000、7 000 r·min^{-1}离心转速对SA-TP-Lip混合凝胶填充TM-12微针模具的影响。不同转速下的实验情况如下: 转速为1 000 r·min^{-1}时, 微针不可成型; 2 000 r·min^{-1}时, 微针针体较短且基底不平整; 3 000 r·min^{-1}时, 微针可顺利成型; 4 000 r·min^{-1}时微针不可成型且针体有气泡; 5 000 r·min^{-1}时, 微针不可成型, 针体结构不完整; 7 000 r·min^{-1}时, 出现凝胶溢出的现象。

实验发现, 当转速低于3 000 r·min^{-1}时, 离心力不足导致混合凝胶无法完全填充模具孔道, 主要堆积于模具表层, 造成微针针体长度不足 (实测平均针长 < 1 500 μm) 且底部形态不规则; 转速提升至7 000 r·min^{-1}时, 过高离心力引发凝胶体系剧烈扰动, 部分物料溢出模具边缘, 同时高速摩擦产生的热量 (温升约5～8 ℃) 导致凝胶提前固化, 形成不可逆的模具表面黏附, 造成微针尖端缺损。3 000 r·min^{-1}转速下离心力场均匀性最佳, 既能促使混合凝胶在5 min内完全浸润针体, 又可避免因剪切力过大导致的物料损失。该条件下制得的微针针体表面光滑无裂痕, 综合成型质量最优。

1.3　烘干温度对微针塑形的影响

基于微针经皮给药的生物相容性需求 (哺乳动物体温恒定于37 ℃), 在固定SA-TP-Lip混合凝胶黏度 (1 690 mPa·s)、离心转速 (3 000 r·min^{-1}) 及离心时间 (5 min) 的条件下, 分别考察30、37、45、50 ℃烘干温度

Table 1　Effect of sodium hyaluronate loading amount on SA-TP-Lip. SA: Sodium hyaluronate; TP-Lip: Triptolide liposome

SA loading amount/mg·mL^{-1}	Torque/%	Viscosity/mPa·s	Spreadability	Flowability	Microneedle molding
100	75.30	185	Poor	Good	Non-moldable
200	85.40	623	Poor	Good	Needle breakage
300	81.60	1 690	Good	Moderate	Moldable
400	90.30	4 695	Poor	Poor	Needle breakage
500	97.00	7 350	Poor	Poor	Non-moldable

对微针物理形态及机械性能的影响 (所有组别均固定离心转速为 3 000 r·min^{-1}、离心时间为 5 min、SA 添加量为 300 mg)。不同烘干温度下微针的成型情况存在差异: 30 ℃时, 微针不可成型; 37 ℃时, 微针可顺利成型; 45 ℃时, 微针的基底出现裂纹; 50 ℃时, 微针的基底和针体均出现裂纹。

实验发现, 37 ℃烘干条件下, 微针水分挥发速率与凝胶固化进程协同性最佳, 针基部位无残留湿润或开裂现象。该温度既符合皮肤表面生理环境, 又能通过控制水分梯度挥发避免热损伤, 最终确定 37 ℃为最佳烘干温度。

基于单因素实验对各关键工艺参数的优化结果, 最终确定 TP-Lip-MNs 的最佳制备工艺如下: 取 1 mL TP 含量为 1 mg·mL^{-1} 的 TP-Lip 混悬液, 加入 300 mg SA, 经磁力搅拌至完全溶解形成均匀体系后, 于 10 000 r·min^{-1} 转速下高速离心 10 min 脱除气泡。取 0.4 mL 脱气后的 SA-TP-Lip 混合溶液, 精准浇筑至 PDMS 微针模具中, 于 3 000 r·min^{-1} 条件下离心填充 5 min, 使混合凝胶均匀浸润模具孔道。填充完成的模具移至 37 ℃烘箱干燥 30 min, 继而转移至常温干燥器中固化 24 h, 制得形态完整、机械性能良好的 TP-Lip-MNs。

2 TP-Lip-MNs 的表征

2.1 形态学表征

如图 1A～D 所示, 采用 PDMS 微针模具 (型号 TM-12) 浇筑−离心填充干燥法制备的 TP-Lip-MNs 具有规则几何形貌。光学显微镜与 SEM 观察显示, 微针阵列呈 10 × 10 均匀排布, 单针体为正四棱锥体型, 平均针长 1 800 μm, 针尖间距 1 220 μm。微针结构致密无气泡, 基底平整且与模具贴合紧密, 针体饱满无缺损, 表明优化工艺可实现微针的高精度成型。

荧光素钠标记的微针经激光共聚焦显微镜扫描显示, 绿色荧光信号 (λ_{ex} = 460 nm) 在针体轴向及径向分布均匀, 无明显荧光强度梯度差异, 证实脂质体药物在微针基质中呈均一分散状态。这种均匀的药物分布特性为经皮给药时药物的可控释放及皮肤渗透提供了结构基础。

2.2 微针的溶解性能考察

实验结果如图 1E 所示, 采用离体 SD 大鼠皮肤模型考察 TP-Lip-MNs 的经皮溶解特性。光学显微镜实时观察显示, 微针垂直刺入皮肤后, 针体基质与皮肤组织液接触后迅速发生水合作用, 30 min 内可见针体结构完全崩解消失, 仅残留基底薄膜。溶蚀过程中无碎片残留, 皮肤表面无机械损伤痕迹。

2.3 力学性能测试

实验结果如图 1F 所示, 当针体发生 300 μm 轴向位移时, 单针平均最大承受力达 0.91 ± 0.05 N (n = 10)。力−位移曲线呈现典型的弹性形变特征, 300 μm 位移内无针体断裂或塑性变形发生, 表明微针针体兼具良好刚性与抗弯曲性能。

2.4 TP-Lip-MNs 穿刺性能考察

2.4.1 微针皮肤恢复性能考察 采用光学显微镜对 TP-Lip-MNs 穿刺后的 SD 大鼠皮肤进行动态观察, 结果如图 2A 所示。微针贴敷后在皮肤表面形成 10 × 10 阵列的规则穿刺微孔, 孔径与微针基底尺寸一致 (约 300 μm × 300 μm)。随时间推移, 穿刺微孔呈现时间依赖性闭合: 贴敷后 10 min 可见孔道边缘轻微收缩,

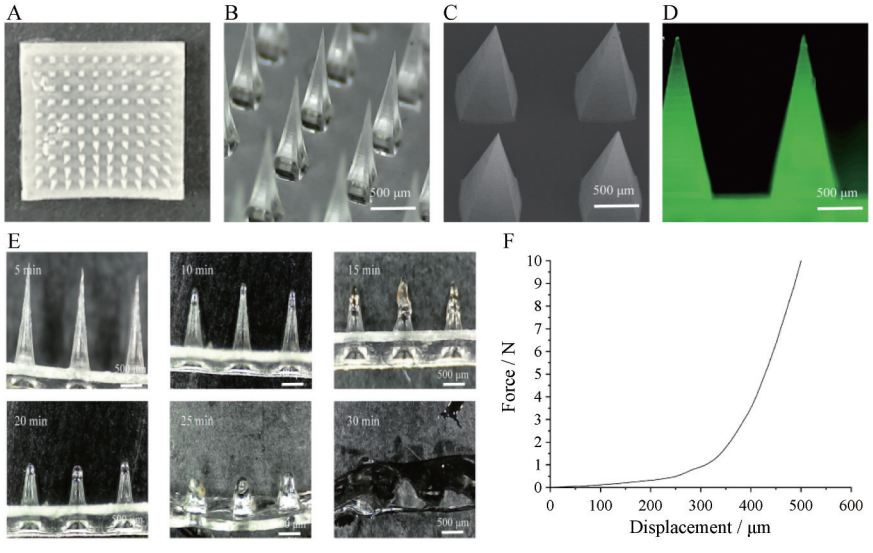


Figure 1 Morphology, structure, and performance characterization of triptolide liposome microneedles (TP-Lip-MNs). A: Front view of TP-Lip-MNs; B: Side view of TP-Lip-MNs; C: Electron microscopy image of TP-Lip; D: Fluorescence distribution map of microneedles; E: Dissolution performance test of microneedles. Scale bar = 500 μm; F: Force-displacement curve

20 min时角质层碎片开始覆盖孔口, 30 min孔道直径缩小至初始的40%, 60 min后皮肤表面穿刺痕迹完全消失, 恢复至平整状态。组织学观察显示, 穿刺过程仅造成角质层浅表性损伤。整个观察周期内 (24 h), 各组大鼠皮肤均未见红斑、水肿、丘疹等局部刺激症状。

上述结果表明, TP-Lip-MNs的微孔穿刺损伤具有高度可逆性, 凭借皮肤自身的屏障修复机制 (角质层再生与表皮细胞迁移), 可在1 h内完成损伤修复, 且无显著局部刺激性, 证实该微针体系具有良好的皮肤生物相容性与安全性。

2.4.2 微针皮下穿刺深度考察 采用冰冻切片技术结合H&E染色法对TP-Lip-MNs的皮肤穿透深度进行定量分析, 结果如图2B所示。切片经H&E染色后, 在光学显微镜 (×200) 下观察微孔通道形态并测量穿刺深度。形态学观察显示, 微针穿刺后在皮肤角质层至棘层形成与针体结构一致的正四棱锥形微孔通道, 通道基底直径约300 μm, 针尖末端穿透深度达200 μm。该深度范围覆盖角质层全层 (约15～20 μm) 并深入表皮棘层中部 (距表皮基底膜约180 μm), 未累及真皮乳头层毛细血管网。通道壁面光滑连续, 周围组织无撕裂性损伤或细胞坏死征象, 仅见轻度角质细胞排列紊乱。

穿刺深度的组织学定位表明, 200 μm级的穿透深度可有效突破皮肤角质层屏障, 使药物直接接触表皮活性细胞层, 同时避免损伤真皮层神经末梢与血管, 为药物经皮递送提供了安全且高效的传输路径。

2.5 微针皮下药物渗透能力考察

采用荧光素钠作为药物示踪剂, 通过激光共聚焦显微镜对TP-Lip-MNs的皮下药物渗透特性进行三维断层扫描分析, 结果如图2C所示。荧光信号随组织深度增加呈现先升后降的分布趋势: 在表皮浅层荧光强度较低且平稳, 60 μm后 (进入表皮活性层) 信号强度迅速增强, 于120 μm深度达到峰值, 随后随真皮层渗透逐渐减弱, 至210 μm深度时荧光信号消失。该最大渗透深度与前期组织切片法测得的穿刺深度高度吻合, 证实微针释放的药物可随针体穿刺形成的微孔通道实现深度渗透。

上述结果表明, TP-Lip-MNs实现了药物在表皮深层 (120 μm) 的高效富集与200 μm深度的可控释放, 其渗透能力既突破了角质层屏障限制, 又避免了真皮层过度损伤, 为局部药物递送提供了精准的深度控制策略。

2.6 TP-Lip-MNs在微针中的稳定性考察

为评估微针制备工艺对脂质体物理稳定性的影响, 将TP-Lip-MNs按1∶10 (*w*/*v*) 比例复溶于37 ℃生理盐水, 经0.22 μm微孔滤膜过滤后, 采用透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 对复溶后的TP-Lip脂质体进行粒径分布及形态学表征。

TEM观察显示 (图2D), 大部分脂质体仍维持完整的磷脂双分子层球形结构, 粒径分布与制备前基本一致 (平均粒径86.97 ± 4.55 nm), 膜结构清晰无破损; 少数脂质体出现形态学改变, 表现为球形结构坍塌, 转化为不规则椭球形或长条形, 部分颗粒可见膜结构轻微褶皱。结构变异的脂质体推测与微针干燥过程中局部机械应力或水分梯度变化相关, 但未观察到大规模膜破裂或药物泄漏现象。上述结果表明, TP-Lip-MNs在复溶后仍能保持较高比例的脂质体结构完整性, 微针基质对活性成分的包载过程未造成显著物理损伤, 载药体系具有良好的存储及应用稳定性。

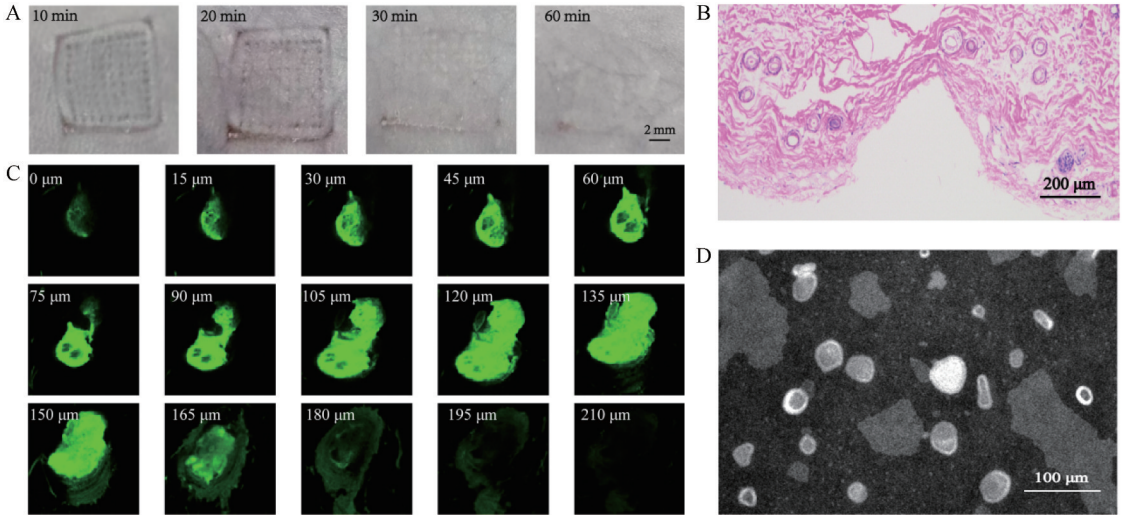


Figure 2 Characterisation of skin penetration effect and stability of TP-Lip-MNs. A: Skin recovery experiment images; B: Subcutaneous puncture depth of microneedles; C: Confocal laser scanning microscopy (CLSM) images of sodium fluorescein reaching different skin depths *via* microneedles; D: Stability evaluation of TP-Lip-MNs in microneedles

2.7 TP-Lip-MNs载药量考察

采用高效液相色谱法对微针载药量进行定量分析。精密取1枚TP-Lip-MNs (规格: 10 × 10阵列, 基底面积12 mm × 12 mm), 置于1.5 mL离心管中, 加入1 mL蒸馏水室温振荡溶解30 min, 所得溶液经0.22 μm微孔滤膜过滤去除不溶性基质杂质。滤液转移至20 mL量瓶中, 加入甲醇至刻度线, 涡旋振荡5 min使脂质体完全破乳, 释放包载药物。

按上述色谱条件进行HPLC进样分析, 以峰面积外标法计算药物含量。平行测定3批样品, 结果显示TP-Lip-MNs平均载药量为每枚63.49 ± 0.68 μg (n = 3), 表明微针制备工艺对药物包载具有良好的稳定性与重现性。

2.8 TP-Lip-MNs经皮渗透试验

针对TP皮肤透过性差的特性, 采用Franz扩散池法考察TP-Lip-MNs对药物透皮吸收的增强效应。体外透皮模型显示 (图3A), TP-Lip-MNs组药物累计透过量 (Q) 随时间呈梯度增长, 4 h时达45.52 ± 2.20 μg·cm^{-2}, 显著高于TP-Lip组同期值 (11.57 ± 1.12 μg·cm^{-2}), 透皮效率提升约3.93倍。与TP-Lip组的快速释放模式不同, TP-Lip-MNs组在24 h内呈现持续释放趋势, 累计透过量达53.54 ± 3.15 μg·cm^{-2}, 约为TP-Lip组 (20.48 ± 0.88 μg·cm^{-2}) 的2.61倍。这种差异源于微针的双重促渗作用: 一方面通过机械穿刺在角质层形成微米级通道, 突破皮肤屏障限制; 另一方面利用基质溶蚀特性实现脂质体药物的可控释放。

实验结果证实, 微针载体可显著提升TP的皮肤透过量, 4 h时的透皮效率优势尤为突出, 且具备一定的缓释特征, 为临床减少给药频率、维持局部药物浓度提供了实验依据。

3 体内药代动力学特征

SD大鼠膝关节局部给药后, TP-Lip-MNs组 (微针组) 与TP-Lip凝胶组 (凝胶组) 的关节腔药物浓度−时间曲线及药代动力学参数分别如图3B和表2所示。微渗析探针监测数据显示: 微针组药物质量浓度于1.5 h达到峰值 (66.35 ± 18.59 ng·mL^{-1}), 随后以一级动力学模式缓慢下降; 凝胶组峰值质量浓度出现于2.5 h (22.49 ± 2.36 ng·mL^{-1}), 较微针组延迟1 h且峰值强度显著降低 (P < 0.000 1)。药代动力学参数对比表明, 微针组峰值浓度为凝胶组的3.0倍, 反映其通过微针机械穿刺在角质层形成的微米级通道, 有效突破皮肤屏障限制, 显著提升药物跨膜扩散速率与关节腔初始富集效率。曲线下面积 ($AUC_{0\text{-}8\ h}$) 分析显示, 微针组生物利用度 (156.80 ± 37.04 ng·h·mL^{-1}) 为凝胶组 (68.31 ± 5.92 ng·h·mL^{-1}) 的2.3倍, 证实微针载体通过“穿刺通道介导的快速渗透”与“基质溶蚀驱动的持续释放”协同作用, 实现了药物在关节局部的高效递送与长时间滞留。

上述差异与两种制剂的递送机制密切相关: 微针组通过物理破膜效应直接跨越角质层屏障, 避免了凝

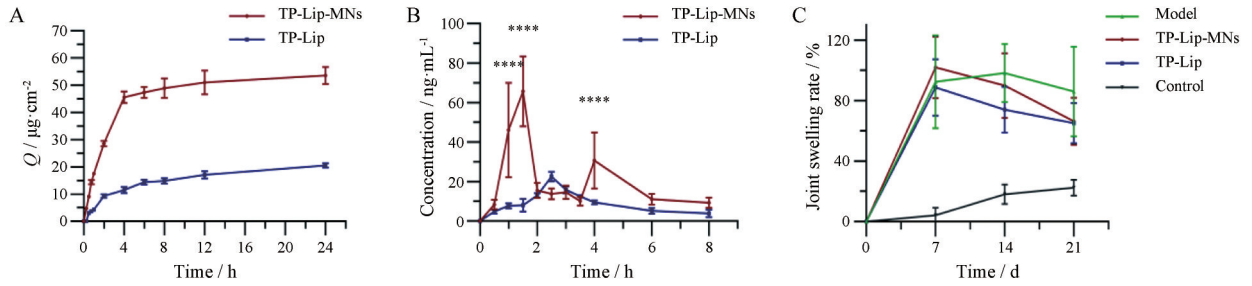


Figure 3 Transdermal release profiles of TP-Lip-MNs, concentration-time profiles of TP in microdialysate from rat knee joints and determination of joint swelling rate in rats. A: Transdermal release curve of TP-Lip-MNs (n = 3); B: Concentration-time curve of TP in rat knee joint microdialysate. n = 6, $\bar{x} \pm s$. $^{****}P$ < 0.000 1 *vs* TP-Lip group; C: Measurement of rat joint swelling rate (n = 6)

Table 2 Main pharmacokinetic parameters of TP after administration of TP-Lip-MNs and TP-Lip. n = 6, $\bar{x} \pm s$. $^{***}P$ < 0.001, $^{****}P$ < 0.000 1 *vs* TP-Lip group

Parameter	TP-Lip-MNs	TP-Lip
C_{max}/ng·mL^{-1}	66.35 ± 18.59***	22.49 ± 2.36
T_{max}/h	1.42 ± 0.20	2.50 ± 0.00
$AUC_{0\text{-}8\ h}$/ng·h·mL^{-1}	156.80 ± 37.04***	68.31 ± 5.92
$AUC_{0\text{-}\infty}$/ng·h·mL^{-1}	205.44 ± 42.32****	86.04 ± 14.80
$t_{1/2}$/h	2.42 ± 0.72	2.71 ± 1.02
V_Z/F/mL·g^{-1}	6 341.58 ± 1 538.92	17 652.61 ± 4 593.44
CL/F/mL·h^{-1}·g^{-1}	2 034.82 ± 522.19	4 781.78 ± 937.40
MRT/h	3.25 ± 0.33	3.49 ± 0.24

胶组受限于皮肤渗透阻力的药代缺陷; 同时, 微针基质的可控溶蚀特性延长了药物释放周期, 使关节腔药物浓度维持在有效治疗窗内的时间显著延长。该结果为TP-Lip-MNs在关节疾病局部治疗中的应用提供了药代动力学层面的科学依据。

4 体内药效学研究

4.1 膝关节肿胀率测定

治疗周期内大鼠膝关节肿胀率动态变化如图3C所示。造模后第7天 (给药起始日), TP-Lip组与TP-Lip-MNs组肿胀率均呈现持续下降趋势, 至第21天 (给药结束日) 肿胀率较造模期峰值分别降低23.64%与35.69%, 但仍高于空白组, 可能与关节腔内残留的炎症细胞浸润、滑膜液分泌异常及纤维组织增生有关; 也可能与给药操作导致的局部机械刺激 (如微针贴敷压力或关节腔注射时的穿刺损伤) 引发的暂时性组织水肿相关。模型组 (未接受药物治疗) 肿胀率在观察期内呈缓慢下降趋势, 推测与机体自身修复机制 (如中性粒细胞清除坏死组织、成纤维细胞参与结构重塑) 有关, 但下降幅度显著低于TP-Lip组与TP-Lip-MNs组。两组治疗组的肿胀率改善差异表明, TP-Lip组与TP-Lip-MNs组均能有效减轻关节局部肿胀。其中, TP-Lip-MNs微针载药系统因药物递送效率的提升, 对关节肿胀的控制效果更为显著。该结果进一步验证了微针载药系统在局部药物递送中的优势, 其通过提高药物靶向富集效率, 增强了对关节炎症性肿胀的干预作用。

4.2 膝关节软骨治疗效果的CT影像

基于TP-Lip组与TP-Lip-MNs组在膝关节肿胀率上的治疗作用及模型组的自然修复趋势, 为进一步探究治疗组对骨关节炎大鼠关节软骨的修复效应, 采用Micro-CT成像技术对空白组、模型组及治疗组大鼠膝关节软骨下骨结构进行三维断层扫描 (图4), 空白组膝关节腔表面光滑平整, 软骨层与软骨下骨边界清晰; 模型组可见明显骨赘堆叠及软骨边缘破损, 关节软骨厚度显著变薄; 治疗组仅表现为轻微的软骨边缘毛糙, 未见大面积骨赘形成或软骨全层缺损, 其骨结构参数变化与影像特征高度吻合。

上述结果证实, TP-Lip组与TP-Lip-MNs组均能通过抑制关节腔炎症反应, 有效阻止骨质增生及骨赘形成, 对关节软骨起到治疗与保护作用, 为其在骨关节炎治疗中的应用提供了影像学层面的实验依据。

5 大鼠膝关节组织学评价

5.1 膝关节软骨组织形态学对比研究

采用矢状面组织切片技术结合多重染色法 (H&E、甲苯胺蓝、番红固绿), 对空白组与治疗组 (TP-Lip、TP-Lip-MNs组) 大鼠膝关节软骨层进行微观结构分析 (图5), 重点评估软骨细胞分布、细胞外基质完整性及软骨层厚度变化, 经TP-Lip及TP-Lip-MNs治疗后, OA大鼠膝关节软骨外层可见少量关节软骨缺失, 但软骨层主体结构未见明显降解; 关节软骨间隙虽呈现增宽改变, 但关节腔内大部分软骨组织仍保持完整, 未出现实质性损伤, 膝关节整体解剖结构维持良好。上述形态学证据表明, 关节腔内注射TP-Lip及TP-Lip-MNs可有效干预OA大鼠膝关节病变进程, 对关节软骨具有保护作用, 并能在一定程度上减轻骨关节炎所致的膝关节结构破坏。

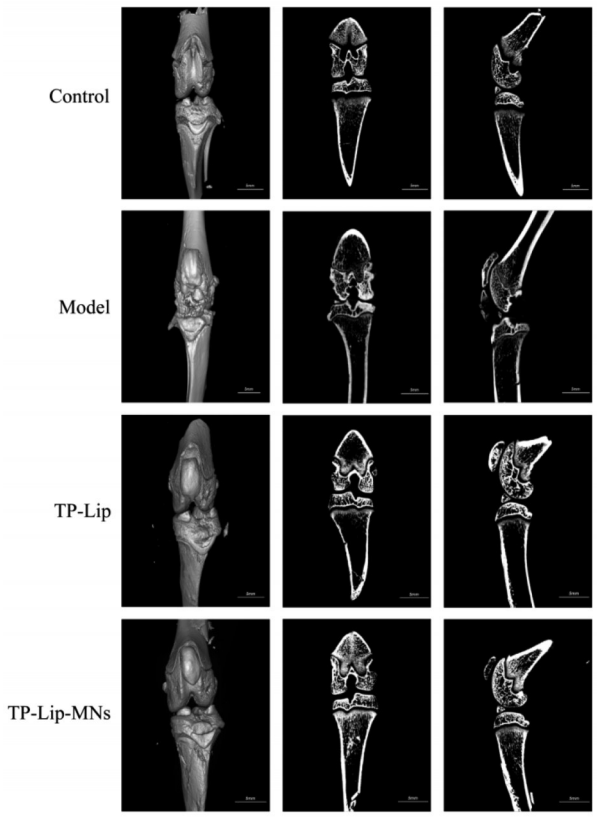


Figure 4 CT frontal, coronal, and sagittal images of the control group, model group, and treatment group. Scale bar = 5 mm

5.2 血清炎症细胞因子水平分析

在骨关节炎病理进程中, 促炎细胞因子网络 (IL-1β、IL-6、TNF-α) 通过级联放大效应介导滑膜炎症反应与软骨破坏。其中, TNF-α作为核心启动因子[14], 可诱导IL-1β和IL-6的转录表达, 而IL-6通过正反馈机制进一步增强前两者的促炎效应, 形成协同致病网络。采用ELISA法对各组大鼠血清中上述细胞因子进行定量分析 (图6), 模型组血清IL-1β、IL-6、TNF-α浓度分别为146.1 ± 6.3、210.7 ± 5.6、363.1 ± 10.2 pg·mL^{-1}, 显著高于空白组 (62.0 ± 5.9、91.8 ± 7.5、161.5 ± 10.8 pg·mL^{-1}, $P < 0.001$), 反映关节炎症引发的系统性免疫激活。经

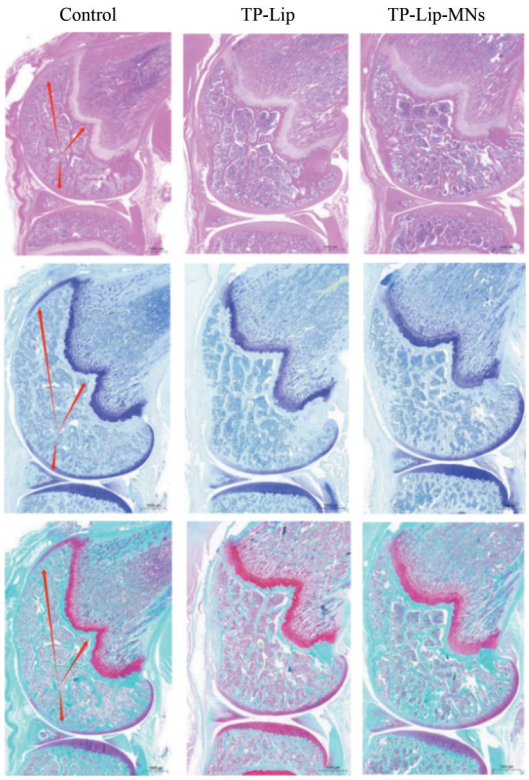


Figure 5 H&E staining, toluidine blue staining, and safranin O-fast green staining tissue sections of each group. Scale bar = 1 000 μm, ×40

TP-Lip 与 TP-Lip-MN 治疗后, 3 项指标均呈现显著下降: IL-1β 分别降至 100.9 ± 4.5 与 84.5 ± 3.9, IL-6 降至 151.4 ± 6.4 与 119.9 ± 7.8 pg·mL^{-1}, TNF-α 降至 263.2 ± 13.4 与 213.0 ± 14.3 pg·mL^{-1}, 较模型组降低 27.5%～43.3% ($P < 0.01$), 且两组治疗组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 该结果可能归因于 TP-Lip-MNs 微针载药系统通过局部靶向递送模式, 促使药物在关节组织中快速富集, 进而直接抑制炎症介质释放与组织水肿, 最终在减轻关节肿胀方面表现出显著优势。值得注意的是, 血清炎症细胞因子作为全身性炎症反应的间接标志物, 其水平受多器官、多组织的综合调控影响。由于局部给药对血清炎症因子的系统性调节作用相对较弱, 两组治疗组间未呈现统计学差异。

上述结果表明, TP-Lip-MNs 通过抑制 TNF-α 介导的炎症级联反应, 下调 IL-1β、IL-6 等下游细胞因子表达, 有效减轻机体系统性炎症反应。其对炎症因子网络的调控效果与关节腔注射制剂相当, 进一步佐证微针载药系统通过局部高效给药可实现与传统注射剂等效的抗炎作用, 为其临床应用提供了免疫学层面的机制支撑。

5.3 生化指标安全性分析

通过检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、肌酐 (CRE) 及血尿素氮 (BUN) 水平 (图 7), 评估 TP-Lip 与 TP-Lip-MNs 对大鼠肝肾功能的影响, 空白组、模型组及治疗组 (TP-Lip 组、TP-Lip-MNs 组) 在 ALT、AST、CRE、BUN 含量均处于正常生理范围, 组间比较均无统计学差异 ($P > 0.05$)。

上述结果表明, TP 经脂质体包载及微针成型后, 在治疗周期内未对大鼠肝肾功能产生显著影响, 血清生化指标的稳定性证实 TP-Lip 与 TP-Lip-MNs 无明显器官毒性。结合前期皮肤刺激性实验与组织相容性观察, 该载药系统在体内外均表现出良好的生物相容性与安全性。

讨论

针对雷公藤甲素水溶性差、生物利用度低及系统性毒性显著的问题, 本研究通过脂质体包载技术结合微针递送系统, 成功制备了 TP-Lip-MNs 新型透皮给药制剂。所制微针呈规则正四棱锥形, 具备 10 × 10 阵列结构 (针长 1 800 μm, 针尖间距 1 220 μm), 针体表面平整无气泡、无断针, 药物分布均匀且机械性能优异 (单针抗压强度 0.9 N), 可精准刺入表皮层 200 μm 深度, 实现药物在表皮棘层 (120 μm 处) 的富集释放。体外溶解性能与皮肤恢复实验表明, 微针接触组织液后 30 min

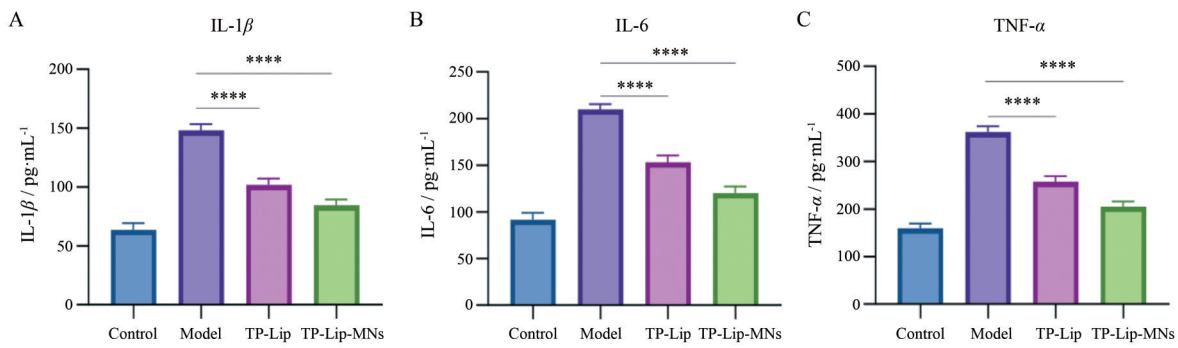


Figure 6 Determination of serum inflammatory cytokine levels. A: Determination of IL-1β; B: Determination of IL-6; C: Determination of TNF-α, $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{****}P < 0.000\ 1$

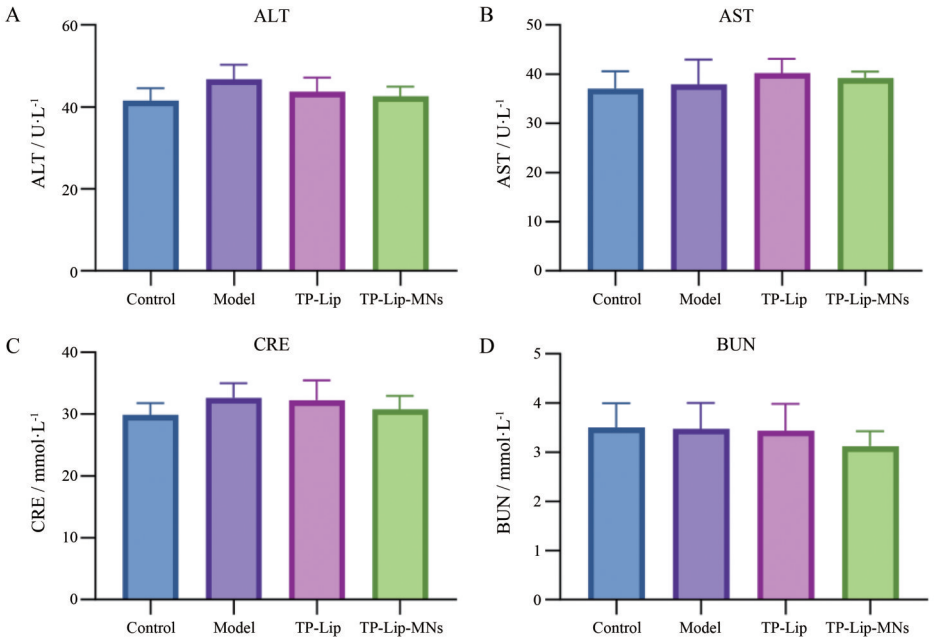


Figure 7 Determination of biochemical indicators. A: Determination of ALT; B: Determination of AST; C: Determination of CRE; D: Determination of BUN. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

内完全溶蚀, 释放药物并在 1 h 内完成皮肤穿刺损伤修复, 无红斑水肿等刺激性反应, 展现出良好的生物相容性与患者用药顺应性。稳定性研究显示, TP-Lip-MNs 复溶后的脂质体仍维持完整磷脂双分子层球形结构, 膜结构清晰无破损, 证实微针基质对脂质体包载过程未造成显著物理损伤。

药代动力学实验通过液质联用技术结合微渗析探针监测发现, TP-Lip-MNs 组关节腔药物曲线下面积 ($AUC_{0\text{-}8\,h}$) 为 (156.80 ± 37.04) ng·h·mL^{-1}, 峰值质量浓度 (C_{max}) 达 66.35 ± 18.59 ng·mL^{-1}, 分别为 TP-Lip 组的 2.3 与 3.0 倍 ($P < 0.01$), 显著提升药物局部富集效率与扩散速率。

骨关节炎治疗效果评价显示, TP-Lip-MNs 可有效抑制关节腔炎症反应: 治疗组膝关节肿胀率较模型组降低 23.64% 与 35.69%, Micro-CT 影像学观察到治疗组显著减少骨赘形成并维持软骨层完整性; 血清炎症因子检测表明, IL-1β、IL-6、TNF-α 含量较模型组降低 27.5%～43.3% ($P < 0.01$), 证实其对炎症级联反应的抑制作用。安全性评价中, 各组 ALT、AST、CRE、BUN 等生化指标均处于正常生理范围, 组间无显著差异 ($P > 0.05$), 结合前期皮肤刺激性实验, 充分验证了该载药系统的体内外生物相容性。

综上所述, TP-Lip-MNs 通过脂质体包载改善药物水溶性, 结合微针的精准透皮递送与局部滞留效应, 在提升 TP 关节腔药物浓度的同时避免系统性毒性, 为骨关节炎的局部靶向治疗提供了高效低毒的新策略。

作者贡献: 孙精通负责实验实施、文章构思; 李净百负责文章构思、文章撰写; 高榕波负责实验实施、文章构思; 刘志东负责审校和提供资金支持。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Zhong YQ, Zhou YY, Ding RY, et al. Intra-articular treatment of temporomandibular joint osteoarthritis by injecting actively-loaded meloxicam liposomes with dual-functions of anti-inflammation and lubrication [J]. Mater Today Bio, 2023, 19: 100573.

[2] Wang ZY, Wang SQ, Wang K, et al. Stimuli-sensitive nanotherapies for the treatment of osteoarthritis [J]. Macromol Biosci, 2021, 21: e2100280.

[3] Qiao L, Li ZY, Li BW, et al. Combination of anti-inflammatory therapy and RNA interference by light-inducible hybrid nanomedicine for osteoarthritis treatment [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14: 5008-5025.

[4] Shah S, Dhawan V, Holm R, et al. Liposomes: advancements and innovation in the manufacturing process [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2020, 154-155: 102-122.

[5] Qu F, Geng R, Liu YJ, et al. Advanced nanocarrier- and microneedle-based transdermal drug delivery strategies for skin diseases treatment [J]. Theranostics, 2022, 12: 3372-3406.

[6] Ji ML, Jiang H, Li Z, et al. Sirt6 attenuates chondrocyte senescence and osteoarthritis progression [J]. Nat Commun, 2022, 13: 7658.

[7] Shen S, Shen W, Wang L, et al. Berberine hydrochloride-loaded liposomes-in-hydrogel microneedles achieve the efficient treat-

ment for psoriasis [J]. Mater Today Bio, 2025, 32: 101795.

[8] Li H, He ZX, Deng BL, et al. Cytokines and chemokines involved in HLA-B27-positive ankylosing spondylitis-associated acute anterior uveitis [J]. Mol Vis, 2023, 29: 378-385.

[9] Gao RB, Sun JT, Liu ZD, et al. Optimization of triptolide liposome formulation using central composite design-response surface methodology [J]. Tianjin J Tradit Chin Med (天津中医药), 2025, 42: 896-901.

[10] Parida JR, Kumar S, Ahmed S, et al. Reactive arthritis and undifferentiated peripheral spondyloarthritis share human leucocyte antigen B27 subtypes and serum and synovial fluid cytokine profiles [J]. Rheumatology, 2021, 60: 3004-3011.

[11] Ramezanian S, Moghaddas J, Roghani-Mamaqani H, et al. Dual pH- and temperature-responsive poly(dimethylaminoethyl methacrylate)-coated mesoporous silica nanoparticles as a smart drug delivery system [J]. Sci Rep, 2023, 13: 20194.

[12] Chen K, Li YH, Li YB, et al. Stimuli-responsive electrospun nanofibers for drug delivery, cancer therapy, wound dressing, and tissue engineering [J]. J Nanobiotechnol, 2023, 21: 237.

[13] Lee K, Lee CY, Jung H. Dissolving microneedles for transdermal drug administration prepared by stepwise controlled drawing of maltose [J]. Biomaterials, 2011, 32: 3134-3140.

[14] Guo JJ, Ye W, Wu XL, et al. TNF-*α* activates RELA expression *via* TNFRSF1B to upregulate OPA1 expression and inhibit chondrogenic differentiation of human adipose stem cells [J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18: 430.