

## 眼用微创布林佐胺可溶性微针

李敏姝<sup>1,2,3,4</sup>, 于翔<sup>4,5</sup>, 金义光<sup>1,4\*</sup>, 吴志鸿<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 解放军总医院第三医学中心眼科, 北京 100039; 2. 解放军医学院, 北京 100853; 3. 锦州医科大学, 辽宁 锦州 121001; 4. 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850; 5. 湖州市中心医院, 浙江 湖州 313000)

**摘要:** 角膜屏障影响眼用药物的渗透及药效。本文选择难溶性药物布林佐胺作为模型药物, 制备了其眼用角膜微创可溶性微针。将布林佐胺溶于乙醇, 加入聚乙烯吡咯烷酮 K90 溶解后, 灌注于微针模具中, 干燥后脱模得到布林佐胺微针。体视镜和扫描电镜显示该微针为圆锥形, 高约 750  $\mu\text{m}$ , 底部直径约 300  $\mu\text{m}$ , 针尖距约 500  $\mu\text{m}$ 。微针贴片为 10 $\times$ 10 阵列, 面积为 1  $\text{cm}^2$ , 载药量高达 7.3  $\text{mg}\cdot\text{cm}^2$ 。布林佐胺微针的 2 h 体外释放率达 93%, 药物角膜渗透量为 877  $\pm$  105  $\mu\text{g}$ 。微针机械强度较大 (0.32 N/针), 易插入大鼠角膜中, 深度达 200  $\mu\text{m}$ , 贴片在 2 min 内就可快速溶解, 受损角膜于 24 h 内可快速修复。所有动物实验经军事医学研究院辐射医学研究所伦理委员会批准且实验均按照相关指导原则和规定进行。眼用微创可溶性微针具有角膜微创和快速修复、载药量大和渗透率高的特点, 有很好的眼部疾病治疗应用前景。

**关键词:** 布林佐胺; 可溶性微针; 眼部给药; 角膜; 微创

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)03-0849-06

## Minimally invasive dissolving microneedles for ocular brinzolamide delivery

LI Min-shu<sup>1,2,3,4</sup>, YU Xiang<sup>4,5</sup>, JIN Yi-guang<sup>1,4\*</sup>, WU Zhi-hong<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Department of Ophthalmology, the Third Medical Centre, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China; 2. Medical School of Chinese PLA, Beijing 100853, China; 3. Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China; 4. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medicine Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China; 5. Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China)

**Abstract:** The permeation and pharmacodynamics of ocular drugs are influenced by the corneal barrier. Here, a hard-soluble drug, brinzolamide, was selected as the model drug and used for preparation of minimally invasive dissolving microneedles. Brinzolamide was dissolved in ethanol and polyvinylpyrrolidone (PVP) K90 was added and dissolved. The mixture solution was casted into the dissolving microneedles mold and dried and brinzolamide dissolving microneedles (BMN) were obtained after demolding. The stereoscopic and scanning electron microscopic images showed that BMN were conical needles with the height of 750  $\mu\text{m}$ , the bottom diameter of 300  $\mu\text{m}$ , and the inter-tip distance of 500  $\mu\text{m}$ . The dissolving microneedles patch was composed of 10 $\times$ 10 arrays with the area of 1  $\text{cm}^2$  and the high drug load of 7.3  $\text{mg}\cdot\text{cm}^2$ . BMN showed a rapid *in vitro* drug release with 93% accumulative release at 2 h and the high drug corneal permeation amount of 877  $\pm$  105  $\mu\text{g}$ . BMN exhibited the high mechanical strength of 0.32 N/needle, leading to easy rat corneal insertion with the depth of 200  $\mu\text{m}$ . Moreover, BMN were rapidly dissolved in the cornea, and more importantly, the damaged cornea were quickly self-healed within 24 h.

收稿日期: 2020-08-31; 修回日期: 2020-10-17.

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目 (7192148).

\*通讯作者 Tel: 86-10-8676678, E-mail: fswuzhihong@sina.com;

Tel: 86-10-66931220, E-mail: jinyg@sina.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1436

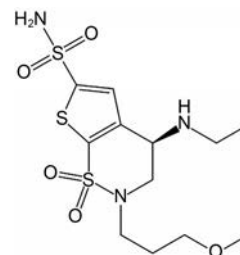
Animal experiments were approved by the Ethics Committee of Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical and the experiments were conducted in accordance with relevant guidelines and regulations. Ocular minimally invasive dissolving microneedles have the advantages of corneal minimal wounds and rapid healing, high drug loading, and high permeability, favoring the treatment of ocular diseases.

**Key words:** brinzolamide; dissolving microneedle; ocular drug delivery; cornea; minimally invasive

眼部局部用药是治疗眼科疾病的重要手段。眼用药物剂型常采用液体或半固体剂型,如滴眼液或眼膏,但因结膜囊体积小(20~30 μL)、泪液分泌和角膜屏障作用等因素,生物利用度低(<5%),难以达到并维持有效药物浓度,需多次给药。眼内注射,如腔内和玻璃体注射,虽然可穿透角膜屏障,但存在感染、出血等并发症风险,并且患者常因疼痛而拒绝治疗。因此亟需一种高安全性和高效角膜渗透性的眼用药物剂型<sup>[1]</sup>。

可溶性微针(dissolving microneedles)是以水溶性或可快速生物降解聚合物为基质的微针,可突破机体屏障将药物直接递送于治疗部位,且形成的组织微创能够快速修复<sup>[2]</sup>。目前,可溶性微针已广泛应用于经皮或黏膜给药,治疗的疾病包括黑色素瘤<sup>[3]</sup>、乙肝<sup>[4]</sup>和疱疹病毒感染<sup>[5]</sup>等。可溶性微针高效渗透和微创的特点使其在眼部给药中受到关注,如抗角膜新生血管生成单克隆抗体的透明质酸微针<sup>[6]</sup>,治疗青光眼的毛果芸香碱多孔速溶聚乙烯醇微针<sup>[7]</sup>。眼用可溶性微针常采用水溶性聚合物(如透明质酸、壳聚糖、右旋糖苷)的水溶液溶解水溶性药物后制备,而疏水性药物采用纳米粒<sup>[8]</sup>、包合物<sup>[9]</sup>和固体分散体<sup>[10]</sup>等技术得到水中溶解或高度分散的中间体后,再制备成微针。该制备工艺复杂,且单片微针载药量低,如两性霉素B聚乙二醇可溶性微针,微针贴片中仅含51.02 μg·cm<sup>-2</sup>的药物<sup>[11]</sup>,并不能满足临床用药的实际需求量。

高选择性和高亲和性的碳酸酐酶抑制剂布林佐胺(brinzolamide, BLZ)是目前临床治疗青光眼的一线药物(图1)。BLZ易溶于乙醇,难溶于水,临床常用剂型是混悬型滴眼剂,但该制剂在结膜囊内滞留时间短、药物流失多、药物角膜渗透性差和生物利用度低。因此该制剂需1日内多次给药,但药效仍不理想。本文以疏水性药物BLZ为模型药物,溶于乙醇后,加入聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP) K90,通过模具灌注法制备了一种载药量大、机械强度高的BLZ可溶性微针。本文详细考察了BLZ可溶性微针(brinzolamide dissolving microneedles, BMN)的处方和性质,包括角膜穿透性、角膜修复和药物渗透等,为可溶性微针的研究提供了借鉴,为眼部疾病的治疗提供了新方法。



**Figure 1** Chemical structure of brinzolamide (BLZ)

## 材料与方法

**药物与试剂** BLZ(青岛君之道生物技术有限公司);布林佐胺滴眼液(BLZ eyedrops, BED, 美国爱尔康公司);PVP K90(分子质量1 300 kDa)、PVP K30(分子质量54 kDa)均购自上海阿拉丁试剂有限公司。其余试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。

**仪器** Agilent 1260型高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];WDW型万能拉力测试仪(济南旺特贝仪器设备有限公司);扫描电镜(SEM, S4800, 日本日立公司);S6D体视镜(德国Leica公司);YB-P6智能透皮试验仪(天津天光光学仪器有限公司);精密手术显微镜(北京众实迪创新科技发展有限公司);聚二甲硅氧烷(PDMS)微针模具(10×10阵列,微针基底面积1 cm<sup>2</sup>,锥状针体,锥体底面直径为300 μm,针尖距为500 μm,针尖高度为800 μm,广州莱客模具有限公司)。

**动物** SD大鼠,SPF级,雄性,体重200±20 g,许可证号:SCXK(京)2019-0010,斯贝福(北京)生物技术有限公司。实验期间动物自由取食、饮水。所有动物实验经军事医学研究院辐射医学研究所伦理委员会批准且实验均按照相关指导原则和规定进行。

**BMN的制备** 取0.73 g BLZ溶于10 mL乙醇,加入1.5 g PVP K90搅匀,放置12 h后充分溶胀,得到微针基质溶液。取100 mg基质溶液加入PDMS微针模具中,室温下置于真空干燥箱中(-100 kPa),1 min后取出,载液模具在室温下晾干12 h左右,得到BMN,于干燥器中保存。

**BLZ含量测定** 用手术刀片分离BMN针体与基底,分别溶于乙醇,用HPLC分别测定基底和针体中的

BLZ 含量。色谱条件<sup>[12]</sup>为色谱柱: Agilent C18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (60:40); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量: 20 μL; 柱温: 25 °C; 检测波长: 254 nm。

**BMN 乙醇残留量测定** 用气相色谱法测定 BMN 中乙醇残留量<sup>[13]</sup>。色谱条件为色谱柱: DB-624, 程序升温, 进样口温度为 200 °C, 检测温度为 250 °C, 检测器为氢火焰离子化检测器 (FID), 载气为氮气, 载气流速为 5 mL·min<sup>-1</sup>, 分流比为 10:1, 柱温: 35 °C 保持 3 min, 然后以 15 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升温至 200 °C, 并保持 5 min, 顶空进样量为 1 mL。

**BMN 的形貌表征** 用导电胶带将 BMN 固定, 在体视镜下观察微针基本形貌特点。在 5 kV 的加速电压下, 用扫描电镜观察微针形貌。

**BMN 溶解时间考察** 腹腔注射异戊巴比妥麻醉 SD 大鼠 3 只, 固定四肢, 操作者左手持眼科镊固定大鼠结膜囊, 充分暴露右眼球, 将 BMN 针尖端对准角膜中央; 右手拇指垂直按压微针基底层, 至针体插入角膜。在不同时间点 (30 s 和 1.2 min), 用眼科镊小心移除微针, 在体视镜下观察微针形态, 评估微针在角膜中的溶解时间。

**BMN 的力学强度表征** 用双面胶将 BMN 固定在万能拉力测试仪水平载物台中央, 设置机器的触发力为 0.05 N, 最大为 50 N, 压缩速率为 0.5 mm·min<sup>-1</sup>, 当探针接触到微针针尖后, 记录压力随位移的变化曲线。

**BMN 体外释药行为考察** 取氯化钠 0.678 g、碳酸氢钠 0.218 g、水合氯化钙 0.008 4 g 和氯化钾 0.138 g, 溶于 100 g 水中配制成人工泪液<sup>[14]</sup>。取单片 BMN 放入盛有 50 mL 人工泪液的锥形瓶, 密闭, 在恒温空气振荡器中做往复运动, 温度 37 ± 0.5 °C, 转速 100 r·min<sup>-1</sup>, 分别在 5、15、30 min 和 1、2、4、6 h 取样 1 mL, 同时补充等量 37 °C 人工泪液。样品液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液用上述 HPLC 法测定药物含量, 以时间 (*t*, h) 为横坐标, 释放百分率 (*F*, %) 为纵坐标, 绘制 BMN 的释放曲线, 并用以下公式 (1~4) 考察 BMN 体外释药机制。

$$\text{零级释放: } F_t = F_0 + K_0 t \quad (1)$$

$$\text{一级释放: } \ln F_t = \ln F_0 + K_1 \quad (2)$$

$$\text{Higuchi: } F_t = K_H \sqrt{t} \quad (3)$$

$$\text{Ritger-Peppas: } \ln F_t = n \ln t + \ln K_p \quad (4)$$

其中,  $F_t$  (%) 为 *t* 时间点药物释放的百分含量;  $F_0$  为  $F_t$  的初始值;  $n$  为药物扩散系数;  $K_0$ 、 $K_1$ 、 $K_H$  和  $K_p$  为各个释放模型的药物释放系数。

**角膜渗透实验** 颈椎脱位法处死 SD 大鼠 3 只, 分离角膜 (带有少量巩膜, 宽约 1 mm), 用生理盐水冲洗 3 次,

固定于 Franz 扩散池供给池和接收池间, 角膜上皮层面向供给池。为保证角膜活性, 角膜渗透实验须在离体后 30 min 内开始。人工泪液作为接收介质充满接收池, 角膜内皮层完全接触介质, 控制水浴温度 37 ± 0.5 °C, 磁力搅拌转速 100 r·min<sup>-1</sup>。将 1 片 BMN 贴片 (含 BLZ 7.3 mg) 插入角膜上皮层; 取 BED 0.73 mL (含 BLZ 7.3 mg) 滴入另一个供给池中, 作为对照。在 15、30 min 和 1、2 和 4 h 分别取样 1 mL, 同时补充等量 37 °C 接收介质。样品液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 续滤液用上述 HPLC 法测定药物含量, 累积渗透量 ( $Q_n$ , μg) 根据公式 (5) 计算。

$$Q_n = C_n \cdot V + V_0 \sum_{i=1}^{n-1} C_i \quad (5)$$

其中,  $V$  (mL) 是接收池中的接收介质体积;  $C_n$  (μg·mL<sup>-1</sup>) 是样品 *n* 的浓度;  $C_i$  (μg·mL<sup>-1</sup>) 是样品 *i* 的浓度;  $V_0$  (mL) 为每次取出接收介质的体积;  $Q_n$  被绘制成时间的函数曲线。药物渗透曲线的斜率代表累积角膜渗透速率 ( $J_{ss}$ , μg·h<sup>-1</sup>)。BMN 的渗透增强比 (enhanced rate, ER) 是 BMN 组和 BED 组  $Q_{4h}$  之比。

**组织中药物残留量考察** 角膜渗透 24 h 后, 移除角膜, 用接收介质冲洗 3 次, 用吸水纸除去残留介质后称重。将每个角膜剪成小块 (约 2 mm×2 mm), 浸入 1 mL 接收介质中, 超声 30 min 后静置 12 h, 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 续滤液依照上述 HPLC 法测定药物含量。

**角膜恢复及微针插入能力的考察** SD 大鼠 3 只麻醉后固定, 将 BMN 按压于角膜, 停留 30 s 后移除, 分别在 0、0.5、1、3 和 24 h 后用手术显微镜观察角膜状态, 并拍摄照片。分别在移除 BMN 后 0、1 和 3 天处死 1 只大鼠, 剥离角膜, 进行冷冻切片和苏木精-伊红 (H&E) 染色, 在倒置显微镜下观察。

**统计学分析** 采用 SPSS 19.0 软件, 通过方差分析的方法对数据进行统计学分析,  $P < 0.05$  被认为具有统计学意义。

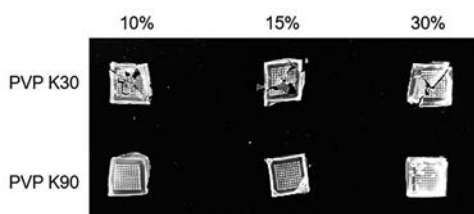
## 结果与讨论

### 1 微针的最优处方

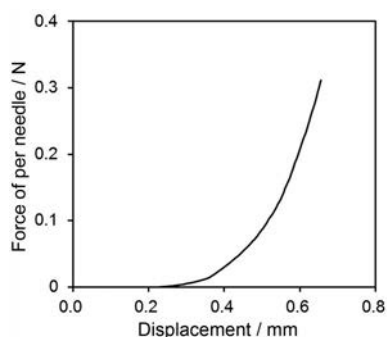
可溶性微针常用基质材料主要是生物可降解聚合物, 如透明质酸、壳聚糖和聚乙烯醇<sup>[15,16]</sup>。但这些材料在乙醇中溶解性差, 对于疏水性药物难以制备成高载药微针。目前报道的眼用微针采用聚乙烯醇, 但存在载药量小、药物释放率低等缺陷。本文采用能快速溶于水 PVP 作为微针基质材料, 更重要的是, 与上述聚合物相比, PVP 在水和乙醇中溶解度均较好, 有利于脂溶性药物如 BLZ 溶解于 PVP 乙醇溶液中, 并且形成

的微针也能快速溶于水,有利于药物释放。本文选择了两种常用PVP,包括PVP K30和PVP K90,作为BLZ微针基质材料进行了制备和性质比较。10%、15%和30% (w/v) PVP K30乙醇溶液制备得到的微针质地脆性大、机械强度小,无法完整脱离模具,强行剥离后均破碎;相同浓度的PVP K90乙醇溶液均能形成高强度微针,并能完整脱模(图2)。10% PVP K90乙醇溶液得到的微针机械强度低,易被弯曲;15%和30% PVP K90乙醇溶液得到的微针机械强度较大,但后者制备的干燥过程消耗时间过长,可达数日。因此,选择15% PVP K90乙醇溶液作为微针基质材料溶液。

BLZ作为疏水性药物 ( $0.4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 在乙醇中有较高溶解度 ( $73 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。本文选择BLZ饱和PVP乙醇溶液作为微针的处方溶液,最大程度提高了BLZ的载药量,并且不影响最后得到微针的机械强度(图3)。因此,含BLZ ( $73 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的15% PVP K90乙醇溶液为BMN的最优化处方溶液。单片BMN所有针尖药物总含量为  $612 \pm 27 \mu\text{g}$ , 底座药物含量为  $6901 \pm 162 \mu\text{g}$ 。同时通过气相法检测出15% PVP K90乙醇溶液风干后的乙醇残余量为0.59%,该浓度不会对角膜产生明显的损伤和刺激<sup>[17,18]</sup>,制备的微针具有良好的生物安全性。



**Figure 2** Effects of polyvinylpyrrolidone (PVP) types and contents on the mechanical strength of microneedles

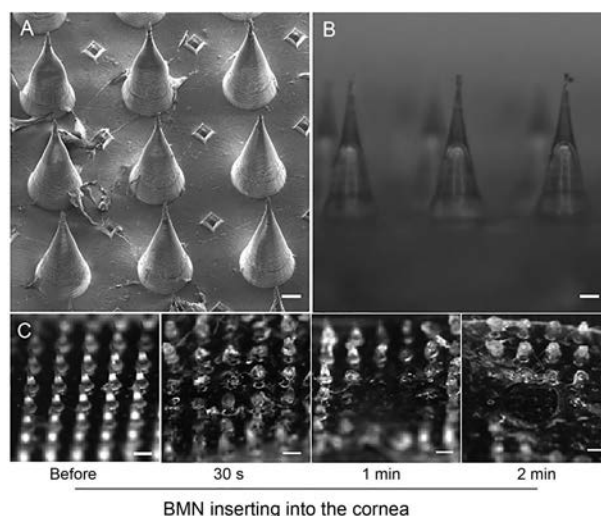


**Figure 3** Force-displacement profiles of brinzolamide dissolving microneedles (BMN)

## 2 微针的性状

体视镜和扫描电镜下显示BMN针体呈圆锥形,针尖完整尖锐,阵列排列整齐(图4A)。已有报道证明圆锥形微针在同等尺寸下比棱锥形或柱形微针的皮肤损伤

小<sup>[19]</sup>。因此,本文基于尽量减小角膜损伤的目的选择圆锥形作为微针针体。BMN针尖宽度约  $10 \mu\text{m}$ , 针体长度约  $750 \mu\text{m}$ (图4B)。人眼角膜中央部位厚度约为  $500\sim 600 \mu\text{m}$ , 并且针尖宽度小于  $30 \mu\text{m}$  的微针易于刺破角膜<sup>[20]</sup>。棱锥形可溶性微针(针尖宽度  $10 \mu\text{m}$ ) 插入角膜需要  $0.05 \text{ N}$  的压力,而圆锥形微针所需的压力更小<sup>[6,21]</sup>。BMN单针承载力约为  $0.32 \text{ N}$ (图3),所以施压后易于穿透角膜。因此可推测BMN易插入角膜,并可插入角膜一定深度,为微针针体溶解和药物释放提供了基础。



**Figure 4** Scanning electron microscopic (A) and stereoscopic (B) images of BMN. The scale bars indicate  $100 \mu\text{m}$ . C: Stereoscopic images of the BMN patch inserting into the cornea at different time points. The scale bars indicate  $400 \mu\text{m}$

## 3 微针在角膜内溶解

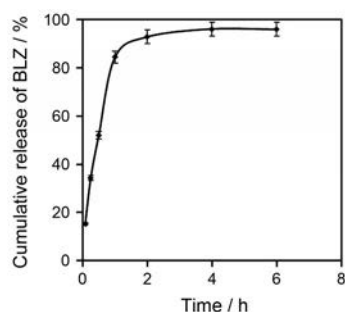
BMN插入在体大鼠角膜后,发现30 s内针体几乎完全溶解,1 min后基底开始溶解,2 min后基底溶解更多,甚至出现穿透现象(图4C)。因此,BMN在插入角膜后能快速溶解,可促进药物释放,易从角膜移除,满足眼用微针快速、高效和微创的特点。

## 4 BMN的药物释放

BMN的药物释放曲线显示在0.5 h时,已有50%的药物从BMN中释放,2 h时药物释放超过90%(图5)。Ritger-Peppas模型对BMN的释放具有最优拟合程度(表1),提示药物释放主要依照溶蚀释放机制<sup>[22]</sup>。已证明BMN能在角膜中快速溶解,因此药物可通过微针溶蚀快速释放于角膜中。

## 5 BMN的药物角膜渗透性

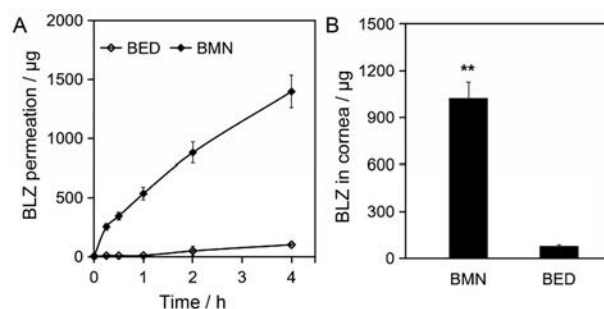
在15 min时,BMN的药物累积渗透量 ( $251 \pm 43 \mu\text{g}$ ) 显著大于BED的药物累积渗透量 ( $6 \pm 1 \mu\text{g}$ , 图6A),同时BMN的药物透角膜速率 ( $J_{ss} = 146 \pm 29 \mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ ) 也远高于BED ( $J_{ss} = 9 \pm 2 \mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ )。因此,BMN通过插入角



**Figure 5** *In vitro* release profile of BMN at 37 °C in the simulated tear fluid ( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

**Table 1** Simulations of drug release from BMN

Simulation model	Parameter	
	Release rate constant ( $k$ )	Correlation coefficient ( $r$ )
Zero-order equation	0.387	0.827
Higuchi's equation	0.722	0.937
Ritger-Peppas' equation	0.590	0.969



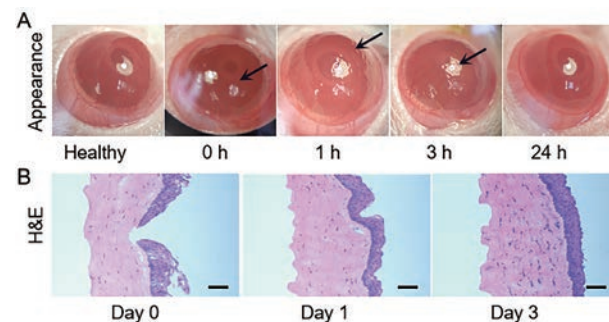
**Figure 6** *In vitro* corneal permeation profiles of BMN and BLZ eyedrops (BED) (A). BLZ in cornea after administration with BMN and BED (B).  $n = 3, \bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.01$  vs BED

膜并在角膜内快速释放药物, 显著提高药物的角膜渗透量和速率; 在 4 h 时, 与 BED 相比, BMN 的药物渗透增强比高达 13。BMN 的角膜内药物储库量显著高于 BED ( $P < 0.01$ ) (图 6B), 说明微针给药可显著延长药物在角膜表面的滞留时间, 提高药物的生物利用度。

## 6 微针角膜插入深度和角膜恢复

微针插入角膜的能力对药物递送和治疗效果有着至关重要的作用<sup>[23]</sup>。大鼠的角膜中央厚度与人体相似 (约 550  $\mu\text{m}$ )。因此, 本文选用 SD 大鼠作为模型动物。在手术显微镜下观察到插过微针的角膜具有与微针阵列一致的点分布, 照相后微创部位具有不均匀反光现象 (图 7A), 说明 BMN 能很好插入角膜。插过微针的角膜在微针取出 1 h 时, 角膜表面的微孔不再清晰, 说明角膜正在快速修复; 3 h 后微孔几乎不可见; 24 h 后角膜已恢复至正常外观 (图 7A)。因此, BMN 给药后造成的角膜微创可自身快速修复。角膜病理切

片显示刚刚插入微针后的角膜表面上皮层和部分中间的基质层出现孔洞, 深度约 200  $\mu\text{m}$ 。该孔洞的形成是眼用微针消除角膜屏障, 促进药物渗透的主要原因。BMN 给药 1 天后角膜上的孔洞已基本消失; 3 天后角膜已完全恢复正常 (图 7B)。因此, BMN 眼部给药具有良好的安全性。



**Figure 7** A: Appearance of rat cornea following the corneal insertion of BMN; B: H&E images of cornea following the corneal insertion of BMN. The scale bars indicate 100  $\mu\text{m}$

## 结论

角膜屏障及药物的疏水性质是眼用制剂开发的主要限制因素<sup>[24]</sup>。本文制备了一种疏水性药物的眼用微针, 制备中充分利用 PVP K90 易溶于乙醇和水的性质, 不仅获得高载药量, 还可在插入角膜后快速溶解释放药物。该微针选择圆锥形针体结构、合适的针体长度和针尖宽度, 适合插入角膜。在短时间插入角膜并取出微针后, 角膜可在 3 日内完全修复。因此, 以 PVP K90 制备的疏水性药物眼用微针是一种新型眼用给药系统, 为眼部疾病的治疗提供一种新方式。

**作者贡献:** 李敏姝负责实验设计、实验操作、数据分析和论文初稿撰写; 于翔负责实验设计和结果分析; 金义光和吴志鸿负责课题设计、实验指导、数据分析、论文写作与修改。

**利益冲突:** 本文不与任何个人或集体存在利益冲突。

## References

- [1] Gote V, Sikder S, Sicotte J, et al. Ocular drug delivery: present innovations and future challenges [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 370: 602-624.
- [2] Waghule T, Singhvi G, Dubey SK, et al. Microneedles: a smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1249-1258.
- [3] Pan J, Ruan W, Qin M, et al. Intradermal delivery of STAT3 siRNA to treat melanoma *via* dissolving microneedles [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 1117.
- [4] Wang T, Zhen Y, Ma X, et al. Mannosylated and lipid A-incorporating cationic liposomes constituting microneedle arrays as an

- effective oral mucosal HBV vaccine applicable in the controlled temperature chain [J]. *Colloids Surf B*, 2015, 126: 520-530.
- [5] Wang N, Zhen Y, Jin Y, et al. Combining different types of multifunctional liposomes loaded with ammonium bicarbonate to fabricate microneedle arrays as a vaginal mucosal vaccine adjuvant-dual delivery system (VADDS) [J]. *J Control Release*, 2017, 246: 12-29.
- [6] Than A, Liu C, Chang H, et al. Self-implantable double-layered micro-drug-reservoirs for efficient and controlled ocular drug delivery [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 4433.
- [7] Lee YJ, Park SH, Kim SI, et al. Rapidly detachable microneedles using porous water-soluble layer for ocular drug delivery [J]. *Adv Mater Technol*, 2019, 5: 1901145.
- [8] Vora L, Donnelly RF, Larraneta E, et al. Novel bilayer dissolving microneedle arrays with concentrated PLGA nano-microparticles for targeted intradermal delivery: proof of concept [J]. *J Control Release*, 2017, 147: 93-101.
- [9] Chen W, Wang C, Yan L, et al. Improved polyvinylpyrrolidone microneedle arrays with non-stoichiometric cyclodextrin [J]. *J Mater Chem B*, 2014, 2: 1699-1712.
- [10] Ma Y, Gill HS. Coating solid dispersions on microneedles via a molten dip-coating method: development and *in vitro* evaluation for transdermal delivery of a water-insoluble drug [J]. *J Pharm Sci*, 2015, 103: 3621-3630.
- [11] Girdhari R, Rohini DG, Veda ST, et al. Amphotericin B containing microneedle ocular patch for effective treatment of fungal keratitis [J]. *Int J Pharm*, 2019, 572: 118808.
- [12] Zhang MD, Jia HL, Jiang RY, et al. Synthesis and HPLC analysis of brinzolamide (*S*)-isomer [J]. *Chem Res Appl (化学研究与应用)*, 2010, 22: 1075-1078.
- [13] Yu X, Jin Y, Du L, et al. Transdermal cubic phases of metformin hydrochloride: *in silico* and *in vitro* studies of delivery mechanisms [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15: 3121-3132.
- [14] Yadav MK, Chuck RS, Park CY. Composition of artificial tear solution affects *in vitro* pseudomonas aeruginosa biofilm formation on silicone hydrogel lens [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2013, 29: 591.
- [15] Liu R, Zhang M. *In vivo* and *in situ* imaging of controlled-release dissolving silk microneedles into the skin by optical coherence tomography [J]. *J Biophotonics*, 2017, 10: 870-877.
- [16] Ling MH, Chen MC. Dissolving polymer microneedle patches for rapid and efficient transdermal delivery of insulin to diabetic rats [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9: 8952-8961.
- [17] Ohan JY, Yu JM, Ko JH. Analysis of ethanol effects on corneal epithelium [J]. *Invest Ophthalmol Vis*, 2013, 54: 3852-3856.
- [18] Yu X, Li MS, Zhu L, et al. Amifostine-loaded armored dissolving microneedles for long-term prevention of ionizing radiation-induced injury [J]. *Acta Biomater*, 2020, 112: 87-100.
- [19] Suzanne MB, Annelieke CK, Rapha Z, et al. Influence of microneedle shape on the transport of a fluorescent dye into human skin *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2010, 147: 218-224.
- [20] Lee KJ, Song HB, Cho W, et al. Intracorneal injection of a detachable hybrid microneedle for sustained drug delivery [J]. *Acta Biomater*, 2018, 15: 48-57.
- [21] Zhan HH, Huang YC, Ma FS. Quality evaluation of lidocaine hydrochloride rapid onset local anesthesia preparation based on microneedles technology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2018, 53: 1371-1376.
- [22] Le J, Zhang X, Lu WY, et al. Using double zero-order model to test the release of dexamethasone implants [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1306-1311.
- [23] Matthews A, Hutnik C. Indentation and needle insertion properties of the human eye [J]. *Eye*, 2014, 28: 880-887.
- [24] Mukesh C, Taneja A. Innovative bulls eye drop applicator for self-instillation of eye drops [J]. *Cont Lens Anterior Eye*, 2020, 43: 256-260.