复合基质水凝胶微针的制备及性能研究

王方园[1]，侯俞如[1]，任晓庆[1]，赵姚姚[1]，郭旻彤[1,2]*
（1. 郑州大学药学院，河南郑州 450001；2. 平原实验室和抗病毒性传染病创新药物全国重点实验室，河南新乡 453000）

摘要：该研究以聚乙烯醇（PVA）和甲基乙烯基醚 / 马来酸共聚物（PVM/MA）或甲基乙烯基醚 / 马来酸酐共聚物（PMVE/MAH）作为复合基质材料，采用热交联法制备水凝胶微针，考察热交联温度、时间以及复合材料种类对水凝胶微针形态、溶胀率的影响，筛选并优化热交联工艺条件。PVM/MA 和 PVA（1 ∶ 1）在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 和 110 ℃ /0.5 h 以及 PMVE/MAH 和 PVA（1 ∶ 1）在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /1 h 和 110 ℃ /0.5 h 条件下制备的水凝胶微针均显示出良好的溶胀率（>200%）、凝胶组分百分比（>80%）、疗效和安全性。对制备的水凝胶微针进行 XRD 和 DSC 分析，结果显示，与物理混合物相比，以 PMVE/MAH 和 PVA（1 ∶ 1）制备的水凝胶微针的 XRD 图谱中 2θ 为 19.45° 处 PVA 衍射峰的消失，玻璃化转变温度（T_g）从约 150 ℃降至约 58 ℃，说明聚合物发生了酯化反应，成功交联。该研究为 PVA 和 PVM/MA 或 PMVE/MAH 复合基质水凝胶微针的透皮给药应用提供了参考。

关键词：聚乙烯醇；甲基乙烯基醚/马来酸酐共聚物；甲基乙烯基醚/顺丁烯二酸酐共聚物；热交联；水凝胶；微针
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)10-1475-10
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.10.011

Preparation and Characterization Study of Composite Matrix Hydrogel Microneedles

WANG Fangyuan[1], HOU Yuru[1], REN Xiaoqing[1], ZHAO Yaoyao[1], GUO Mintong[1,2]*
(*1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001;*
2. Pingyuan Lab. and National Key Lab. of Innovative Drugs for Antiviral Infectious Diseases, Xinxiang 453000)

ABSTRACT: Polyvinyl alcohol (PVA) and methyl vinyl ether and maleic acid copolymer (PVM/MA) or methyl vinyl ether and maleic anhydride copolymer (PMVE/MAH) were used as composite matrix materials to prepare hydrogel microneedles by thermal crosslinking method. The effects of crosslinking temperature, time, and material type on the morphology and swelling rate of hydrogel microneedles were investigated to optimize the thermal crosslinking conditions. Hydrogel microneedles prepared with PVM/MA and PVA (1∶1) at 80 ℃/2 h, 95 ℃/0.5 h and 110 ℃/0.5 h, and PMVE/MAH and PVA (1∶1) at 80 ℃/2 h, 95 ℃/1 h, 110 ℃/0.5 h showed good swelling rate (>200%), percentage of gel fraction (>80%), efficacy, and safety. The results of differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD) analyses showed that compared with the physical mixture group, the PVA diffraction peak at 2θ of 19.45° in the XRD pattern of hydrogel microneedles disappeared and glass transition temperature (T_g) was decreased from about 150 ℃ to 58 ℃, which confirmed that the polymers underwent esterification and were successfully crosslinked. This study provided references for transdermal drug delivery applications of PVA and PVM/MA or PMVE/MAH composite matrix hydrogel microneedles.

Key Words: polyvinyl alcohol; methyl vinyl ether and maleic acid copolymer; methyl vinyl ether and maleic anhydride copolymer; thermal crosslinking; hydrogel; microneedle

水凝胶微针（hydrogel microneedles，HMNs）能无痛穿透角质层，在插入时迅速吸收皮肤间质液，膨胀形成连续、不可阻塞的通道，其携载的药物可由该通道递送至皮下组织[1]。不同于硅或金属微针，

收稿日期：2022-10-25
作者简介：王方园(1996—)，女，硕士研究生，专业方向：缓控释制剂和新型释药系统。
通信作者：郭旻彤(1968—)，男，博士，教授，从事缓控释制剂和新型释药系统的研究。
E-mail：guo5566@126.com

HMNs 具有良好的生物相容性 [2]，且可通过调节其交联程度类来改变溶胀速率和程度，从而控制药物释放，因此备受研究者关注。

HMNs 通常由水溶性聚合物通过物理交联或化学交联制备，吸水后可形成亲水性三维网络结构 [3]。有研究 [4] 表明，化学交联法的交联效率比物理交联法高，且形成的水凝胶结构较强、交联条件易控制、药物释放速度灵活调节。目前，化学交联主要分为需要交联剂的热交联法 [5] 和无化学交联剂的热交联法 [6—8]。化学交联剂会降低生物相容性和安全性 [9]，而高温（高达 130 ℃）和长时间（长达 24 h）加热不适于多数药物。为开发更适于临床应用，且能以工业规模制备的 HMNs，了解复合材料种类及热交联条件对 HMNs 性能的影响非常重要。

本研究将聚乙烯醇（polyvinyl alcohol，PVA）和甲基乙烯基醚 / 马来酸共聚物（methyl vinyl ether and maleic acid copolymer，PVM/MA，Gantrez® S-97 BF）或甲基乙烯基醚 / 马来酸酐共聚物（methyl vinyl ether and maleic anhydride copolymer，PMVE/MAH，Gantrez® AN-139）复合，采用热交联法构建了一种新型 HMNs 递药系统，考察了复合材料种类、热交联温度和热交联时间等关键参数对水凝胶微针溶胀性能、机械强度和药物释放的影响，结合 DSC 和 XRD 分析，从物理药剂学角度研究了 HMNs 的交联程度与其性能之间的联系，期望通过药剂学、物理药剂学、组织生理学等方面的基础研究，为交联聚合物体系的选择与热交联工艺的开发提供有效的筛选方法和手段。

1　仪器与试药

800B 型台式离心机（上海安亭科学仪器厂）；AR223CN 型千分之一电子天平［奥豪斯仪器（上海）有限公司］；UW 120D 型十万分之一分析天平（日本 Shimadzu 公司）；500 倍 USB 拜斯特数码显微镜（北京精细诚光学仪器游戏有限公司）；TA. HD. Plus 型物性分析仪（英国 Stable Micro Systems 公司）；DSC 204 F1 Phoenix 型 DSC 仪（德国耐驰公司）；D8 ADVANCE 型 XRD 仪（德国 Bruker 公司）；Donatello 型脱水机（意大利 Diapath 公司）；JB-P5 型包埋机和 JB-L5 型冻台（武汉俊杰电子有限公司）；KD-P 型组织摊片机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）；RM2016 型病理切片机、DM 3000 型生物显微镜（德国徕卡有限公司）；Zeiss Gemini 300 型 SEM（德国蔡司公司）；A1 系列激光共聚焦显微镜（日本尼康株式会社），Parafilm™ 封口膜（美国 Bemis 公司）。

PVM/MA（批号 0002463208）和 PMVE/MAH（批号 0002386794）（美国 Ashland 公司）；PVA（江西阿尔法高科药业有限公司，规格 05-88，批号 20201001）；亚甲基蓝（天津市恒兴化学试剂制造有限公司）；罗丹明 B（北京索莱宝生物科技有限公司）；氯化钠为分析纯。聚二甲硅氧烷（PDMS）模具（台州微芯医药科技有限公司，10×10 阵列，针体呈圆锥状，针高 800 μm，针体底径为 300 μm，针尖距 650 μm）。

白猪（牧原食品股份有限公司）的新鲜猪皮（腹部，已经脱毛），使用前贮存在 －20 ℃冰箱中；雄性 C57BL/6J 小鼠，4 ～ 6 周，体质量 15 g，由河南省实验动物中心提供，许可证编号：SCXK（豫）2017-0001。所有动物试验遵循郑州大学实验动物伦理审查委员会有关实验动物管理和使用的规定，均符合 3R 原则。

2　方法与结果

2.1　HMNs 的制备

取适量 PVA、PVM/MA 和 PMVE/MAH，分别溶于蒸馏水中，制得固含量为 30% 的聚合物溶液。按表 1 所示的处方配制聚合物混合溶液，充分搅拌，浇铸到模具中；通过多次离心入模，确保完全入模且除尽气泡；然后置 50 ℃烘箱中干燥 8 h，固化成型并脱模得成型微针。将成型微针于 80、95 及 110 ℃烘箱中分别放置 0.5、1、2、5 h，诱导热交联。

表 1　HMNs 处方 /%

Tab.1　Formulations of HMNs/%

处方编号	PVM/MA	PMVE/MAH	PVA	水
F1	15	—	15	70
F2	—	15	15	70

显微镜观察结果显示，热交联的 HMNs 与未交联微针均形态良好。F1 组（PVM/MA 与 PVA 质量比为 1 ∶ 1）的 HMNs 在 110 ℃交联 1、2 和 5 h 时，未观察到微针形态改变，但颜色变黄且逐渐加深；

F2 组（PMVE/MAH 与 PVA 质量比为 1 ∶ 1）的 HMNs 在 110 ℃交联 1 h 时未观察到颜色变化，交联 2 h 时开始变黄，且随着交联时间增加，颜色加深。高交联温度和长时间反应导致微针颜色变黄的原因可能是 PVM/MA、PMVE/MAH 脱水和 PVM/MA、PMVE/MAH 形成了对氧敏感的双键[10]。

2.2 HMNs 的溶胀研究

交联温度和时间对微针的溶胀形态有显著影响。当交联温度较低、时间较短（80 ℃ /0.5 h）时，F1 组 HMNs 在溶胀后会形成团状物，易碎裂；随着交联温度升高和交联时间延长（80 ℃ /1 h、80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 和 110 ℃ /0.5 h），HMNs 在水中溶胀 24 h 时仍具有较好的形态，可观察到明显的针体，具有临床应用潜力；交联时间再增加（80 ℃ /5 h、95 ℃ /1 h、95 ℃ /2 h、95 ℃ /5 h、110 ℃ /1 h、110 ℃ /2 h），HMNs 溶胀时会发生针尖与背衬层的分离，可能是因为背衬层与针尖部位的溶胀速率不同所致。110 ℃热交联 5 h 制备的 F1 组 HMNs 24 h 内未观察到溶胀发生，可能是由于高温和长时间加热加速了聚合物交联，造成 HMNs 交联程度过高。

不同交联时间及交联温度制备的 F2 组 HMNs 溶胀后的形态变化与 F1 组相似。不同的是，80 ℃交联 1 h 所得的 F2 组 HMNs 溶胀后会形成团状物，易脆裂；在 95 ℃交联 1 h 时，HMNs 不会发生针尖与背衬层的分离，可能是因为 PMVE/MAH 与 PVM/MA 的羧基数目不同，材料性质有差异。F2 组处方在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h、95 ℃ /1 h 和 110 ℃ /0.5 h 条件下形成的 HMNs 在蒸馏水中溶胀 24 h 后形态良好，具有潜在的应用前景。

为评价 HMNs 在室温下的溶胀性能，检测了所得 HMNs 的溶胀率、平衡含水量（equilibrium water content，EWC）和凝胶组分百分比（gel fraction，GF）。称定干燥状态的 HMNs 质量（m_0），然后浸入装有蒸馏水的培养皿中；在测试时间点取出，用滤纸擦干表面多余的水分并称定（m_t），按式①计算溶胀率。微针的交联度高，则溶胀率小，药物缓慢释放；交联度低，则溶胀率大，药物可快速释放。EWC 反映了 HMNs 吸收水分的能力。将 HMNs 在溶胀过程中溶胀率不再发生明显改变（即达到了平衡溶胀）时的质量记为 m_e，按式②可计算得到 EWC。GF 是指交联后形成的不溶性聚合物的百分比，越接近 100%，表明交联越完全，HMNs 插入皮肤后在体内的残留较少。取完全溶胀的 HMNs，擦干表面水分后在 80 ℃烘箱中干燥至恒重（记作 m_d），以去除水和未反应的聚合物，按式③可计算得到 GF。

$$溶胀率 = (m_t - m_0)/m_0 \times 100\% \quad ①$$

$$EWC = (m_e - m_0)/m_e \times 100\% \quad ②$$

$$GF = m_d/m_0 \times 100\% \quad ③$$

在 80 ℃ /1 h、80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 和 110 ℃ /0.5 h 条件下，F1 组 HMNs 的平衡溶胀率分别为（1 532.78±279.00）%、（637.93±85.94）%、（828.57±254.10）%和（247.42±36.89）%（n=3），且所有的 HMNs 在 24 h 内均达到溶胀平衡（图 1A）。EWC 和 GF 计算结果如表 2 所示。在 80 ℃ /1 h 条件下制备的 HMNs 溶胀率及 EWC 虽符合要求，但 GF 值较低［（74.27±1.73）%］，应用时在皮肤上会有较多残留，故对此条件下制备的 HMNs 不再进行后续研究。另外，EWC 数据也显示：升高热交联温度和（或）延长热交联时间会形成交联度较高的系统，使水凝胶网络中的水分减少、溶胀率降低。

在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h、95 ℃ /1 h 和 110 ℃ /0.5 h 的条件下，F2 组 HMNs 的平衡溶胀率分别为（772.69±35.89）%、（1 161.41±66.87）%、（460.96±71.99）%及（292.34±26.54）%（n=3），且所有的 HMNs 在 24 h 内也均达到溶胀平衡（图 1B）；EWC 和 GF 计算结果如表 2 所示。试验结果表明，F2 组 HMNs 和 F1 组 HMNs 的溶胀性能变化规律相似，不同的是，在 95 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F2 组 HMNs 的 GF 值较低，插入皮肤后残留较多，应用价值较小。

上述试验数据显示，在所有交联条件下，HMNs 的溶胀率均 >200%，满足释药要求[6]。升高交联温度和延长交联时间会降低 HMNs 的溶胀率、增大 GF 值。聚合物种类的变化也会影响 HMNs 的溶胀情况，在相同热交联条件（80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 和 110 ℃ /0.5 h）下，F2 组 HMNs 的 EWC

均高于 F1 组 HMNs，这可能是因为 F2 组 HMNs 交联程度较低，酯化反应形成的酯键强度较弱。

表 2　不同热交联条件下所得 HMNs 的 EWC 及 GF 计算结果 /%（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.2　Calculation Results of EWC and GF of HMNs with Different Thermal Crosslinking Conditions/%（$\bar{x}\pm s$, n=3）

热交联条件	F1组		F2组	
	EWC	GF	EWC	GF
80 ℃/1 h	93.58±0.65	74.27±1.73	—	—
80 ℃/2 h	85.30±2.06	86.15±0.80	88.54±0.02	82.30±0.88
95 ℃/0.5 h	87.38±1.90	81.48±2.00	92.04±0.01	74.35±1.89
95 ℃/1 h	—	—	81.97±2.38	89.65±1.36
110 ℃ 0.5 h	71.06±2.56	93.76±0.51	74.37±1.74	96.03±1.01

2.3　机械性能

为了确保微针能够成功穿刺角质层，微针需要具有足够的机械强度，本研究通过质构仪测定微针的机械强度并绘制压力 - 位移曲线。在不同交联条件下按 F1 组处方和 F2 组处方制得的微针针尖的应力随着针尖形变量的增大不断增加，且未观察到断裂点。针尖形变量较大时，F1 组未交联微针及在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 和 110 ℃ /0.5 h 交联条件下形成的 HMNs 阵列中每个针尖受到的压力分别为（3.77±0.11）、（7.32±0.18）、（6.33±0.16）和（12.67±0.26）N（图 2A）。F2 组未交联微针及在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /1 h 和 110 ℃ /0.5 h 条件下形成的 HMNs 阵列中每个针尖受到的压力分别为（5.52±0.16）、（5.80±0.17）、（7.64±0.19）和（8.98±0.25）N（图 2B）。所有微针均能成功刺破角质层且未观察到断裂发生。

聚合物种类会影响 HMNs 的机械强度，在相同热交联条件下（80 ℃ /2 h 和 110 ℃ /0.5 h），F1 组 HMNs 的机械强度高于 F2 组 HMNs，这可能是因为 PMVE/MAH 水解产生的羧基数目低于 PVM/MA，在交联过程中产生的酯键数目较少，导致交联程度较低的结果。除了在 80 ℃ /2 h 条件下交联得到的 F2 组 HMNs，F1 组和 F2 组交联微针的机械强度明显大于未交联微针，表明采用热交联处理可显著提高微针的机械强度。

采用 Parafilm^{TM} 膜评估 HMNs 的插入特性，将 Parafilm^{TM} 膜折叠得到 8 层薄膜（厚约 1 mm）并垫在泡沫上；用拇指将微针插入后保持按压 30 s 左右，然后将插入的微针移除，展开 Parafilm^{TM} 膜并观察

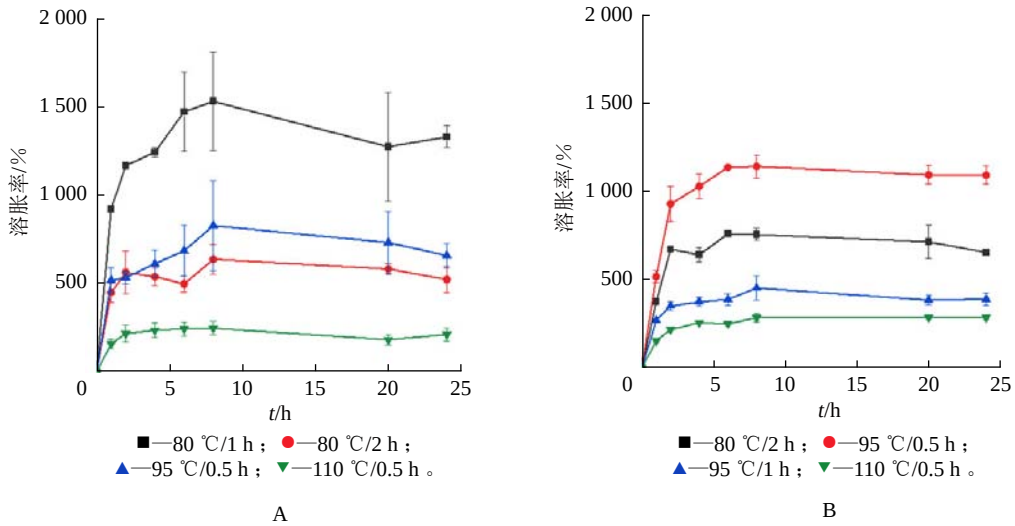


图 1　不同热交联条件下 F1 组（A）和 F2 组（B）微针的溶胀率（n=3）

Fig.1　Swelling Ratios of F1 Group（A）and F2 Group（B）Microneedles Obtained under Different Thermal Crosslinking Conditions（n=3）

每一层产生的孔洞数。按式④计算插入率[2]。

$$插入率=\frac{观察到的孔洞数}{预期孔洞数}\times 100\% \qquad ④$$

在不同热交联条件下制得的F1组和F2组HMNs均可成功插入前3层，插入率均达到100%，但在第4层和第5层膜上，可以观察到不同交联条件、不同基质材料制得的微针插入深度不同（图3、4）。由图3可见，所有微针均可成功穿刺至第5层；每层Parafilm™膜厚度约为125 μm，表明所有微针的插入深度约为625 μm，约占微针高度的78%，这表明HMNs具有足够的机械强度和良好的插入特性。

为评估HMNs的皮肤插入特性，采用离体猪皮作为人体皮肤的替代模型。使用前将猪皮用铝箔纸包裹并在 -20 ℃冰箱中冷冻，使用时提前将离体猪皮解冻，恢复至室温后用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液（pH 7.4）反复冲洗干净。擦干水分后将角质层侧朝上放置，将HMNs插入猪皮并按压30 s，15 min后拔出微针，用1 mg/mL的亚甲基蓝溶液染色3 min，洗去浮色，拍照记录，观察HMNs在皮肤上产生的孔洞数。结果显示所有微针均能够成功穿透猪皮，并在猪皮上表面形成排列整齐的蓝色孔洞（图5）。

2.4 HMNs的交联

使用X射线衍射仪对PVA和PMVE/MAH的物理混合物及交联形成的HMNs进行分析。测试条件：辐射源 Cu K_α；入射光波长 0.154 06 nm；扫描角度5(°)/min；扫描范围5° ～ 40°。

结果（图6）显示，物理混合物的XRD图谱中，2θ=19.45°处有一个尖锐的衍射峰，这是PVA晶体结构的特征峰；热交联反应制备的HMNs在2θ=19.45°没有PVA晶体的特征峰或者其他结晶峰。这表明PMVE/MAH水解后产生的羧基与PVA的羟基发生酯化反应，形成了一个交联、有序的网络结构，而不是单一的分散相[11]。

对PVA和PMVE/MAH的物理混合物及不同热交联条件下制成的HMNs进行DSC分析。取微针样品约5.0 mg于铝锅内，加热速度10 ℃/min，温度范围20 ～ 300 ℃，氮气流速50 mL/min。结果如图7所示。193.86 ℃处观察到PMVE/MAH和PVA物理混合物的吸热峰，在80 ℃/2 h、95 ℃/1 h及110 ℃/0.5 h条件下交联得到的F2组HMNs分别在155.19、156.29及156.36 ℃处观察到吸热峰，交联HMNs吸热峰的变化表明PMVE/MAH的羧基和PVA的羟基之间发生酯化反应，生成了酯键，聚合物之间形成了交联网络结构。

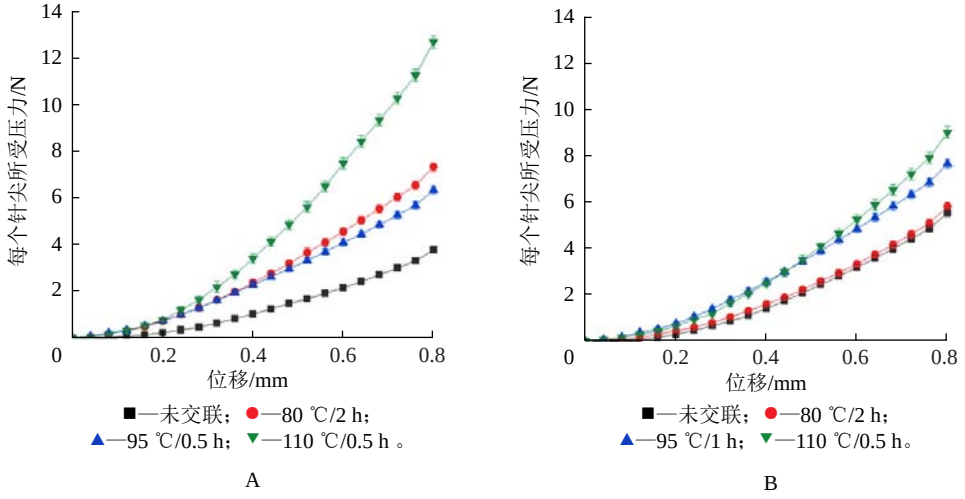
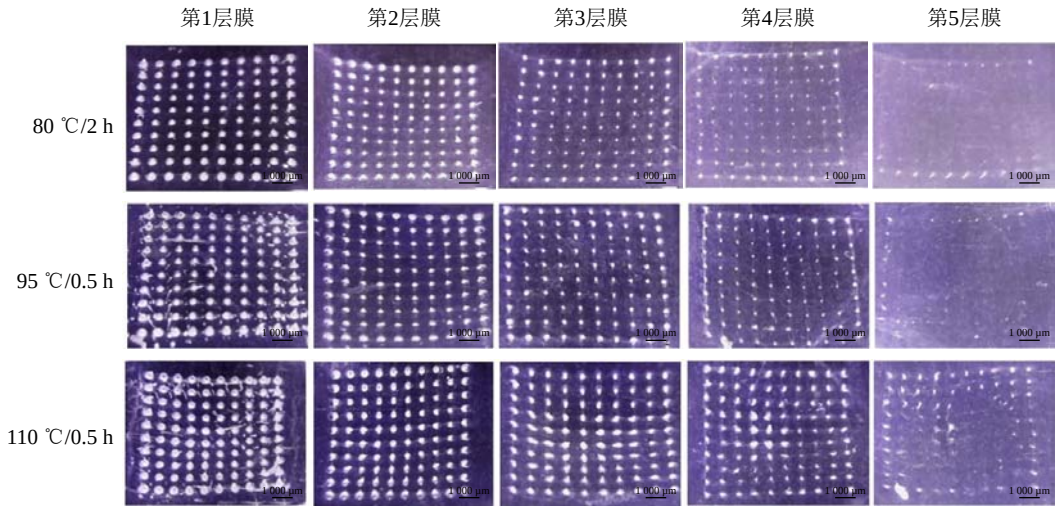
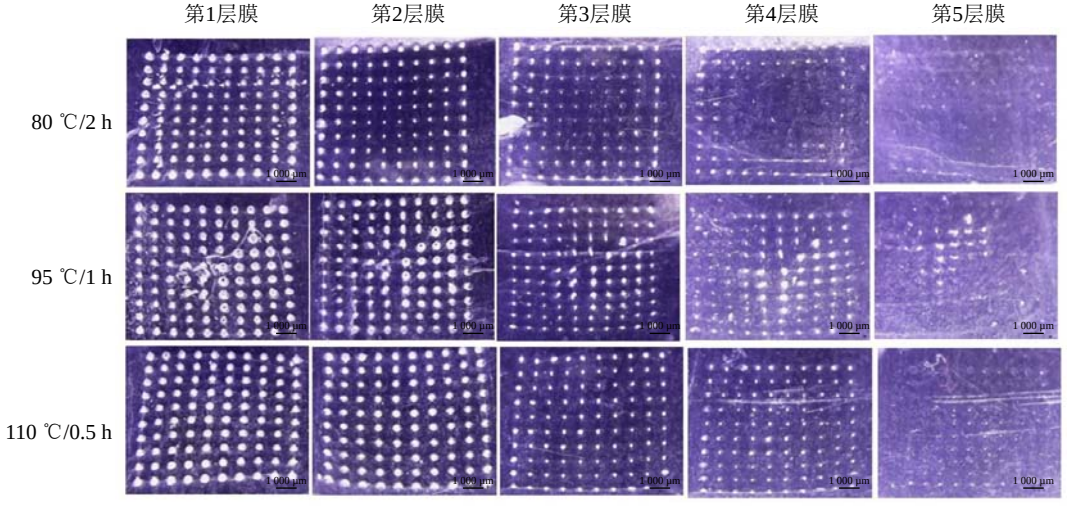


图2 F1组（A）和F2组（B）微针热交联前后的压力 - 位移曲线（*n*=3）

Fig.2 The Force-distance Curves of F1 Group（A）and F2 Group（B）Microneedles before and after Thermal Crosslinking（*n*=3）



A



B

图 3　不同热交联条件所得的 F1 组（A）和 F2 组（B）微针插入 Parafilm™ 膜的照片

Fig.3　Parafilm™ Film Insertion Diagrams of F1 Group (A) and F2 Group (B) Microneedles with Different Thermal Crosslinking Conditions

聚合物的玻璃化转变温度（T_g）指聚合物由玻璃态向高弹态转变的温度，是检验其组成部分之间相容性的有效方法[12]。PMVE/MAH 和 PVA 物理混合物的 T_g 为（151.06±0.80）℃，在 80 ℃/2 h、95 ℃/1 h 及 110 ℃/0.5 条件下制备的 F2 组 HMNs 的 T_g 均下降，分别为（56.24±0.60）、（58.08±0.30）和（58.41±0.50）℃（n=3）。T_g 值下降表明 HMNs 各组分相容性良好。PMVE/MAH 和 PVA 在不同热交联条件下所得 HMNs 的 T_g 无显著差异，表明当热交联程度达到一定范围时，HMNs 的网络结构不再发生重大变化[10]。

2.5　组织学研究和皮肤恢复试验

试验前 24 h 用剃毛器和脱毛膏去除小鼠的毛发。将 HMNs 应用于小鼠背部皮肤，3 min 后移除并立即处死小鼠。分离皮肤组织样品，用 4% 多聚甲醛溶液固定，经脱水处理、石蜡包埋、在穿透部位切片，并用苏木精 - 伊红（HE）染色，在显微镜下观察并拍摄。结果如图 8 所示。

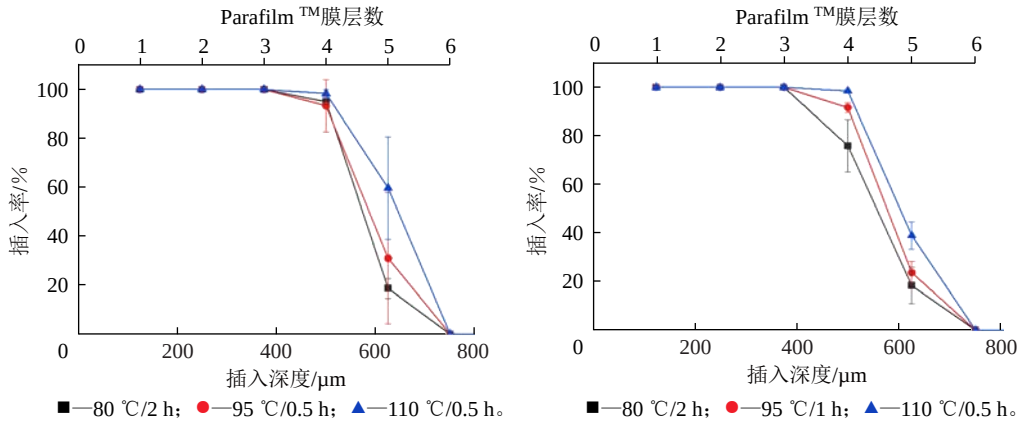
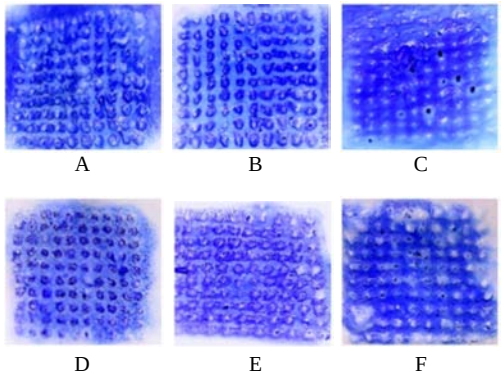


图 4 F1 组（A）和 F2 组（B）微针在每层 Parafilm™ 膜上的插入率及插入深度（*n*=3）

Fig.4 Insertion Rate and Insertion Depth Created by F1 Group (A) and F2 Group (B) Microneedles in Parafilm™ Layers (*n*=3)



A—80 ℃ /2 h 条件下制备的 F1 组微针；B—95 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F1 组微针；C—110 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F1 组微针；D—80 ℃ /2 h 条件下制备的 F2 组微针；E—95 ℃ /1 h 条件下制备的 F2 组微针；F—110 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F2 组微针。

图 5 离体猪皮肤插入结果

Fig.5 Insertion Results of Excised Pig Skin

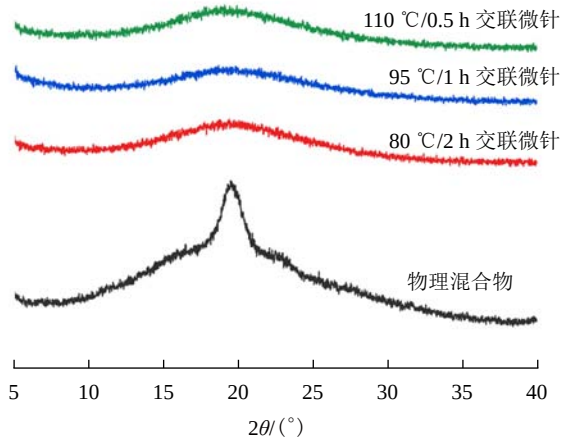


图 6 PMVE/MAH 和 PVA 的物理混合物及 HMNs 的 XRD 图谱

Fig.6 XRD Patterns of the PMVE/MAH and PVA Physical Mixture and HMNs

在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h 及 110 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F1 组 HMNs 以及在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /1 h 及 110 ℃ /0.5 h 条件下制备的 F2 组 HMNs 插入小鼠皮肤后，可观察到明显的针孔，说明微针能成功穿刺角质层，在皮肤中形成微孔道（图 8 中黑色箭头所示），为药物有效递送至皮下提供了基础。微孔道深度明显低于微针的实际长度，这可能是皮肤的弹性和变形导致的[13]。

将 HMNs 应用于小鼠背部皮肤，手指按压 30 s，3 min 后移除 HMNs，并于指定时间点记录小鼠的皮肤恢复情况。HMNs 移除时，小鼠背部皮肤产生了清晰微孔，应用部位仅产生轻度红斑。2 h 后，皮肤表面的针孔数量明显减少，并且随着时间推移，红斑逐渐消失。24 h 后，红斑完全消失，肉眼完全不可见到针孔，皮肤未出现感染现象（红肿、流脓或渗出），表明 HMNs 造成的孔洞能在微针拔出

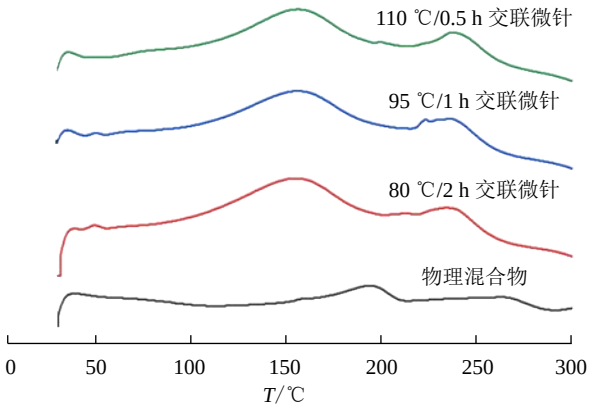


图 7　PMVE/MAH 和 PVA 的物理混合物及 HMNs 的 DSC 曲线

Fig.7　DSC Curves of the PMVE/MAH and PVA Physical Mixture and HMNs

24 h 后基本愈合（图 9）。

2.6　微针的形态和药物分布

采用 SEM 观察 F2 组未交联微针和交联微针（80 ℃ /2 h）的表面形貌，结果如图 10 所示，微针针体呈“圆锥”形状，针体均匀。

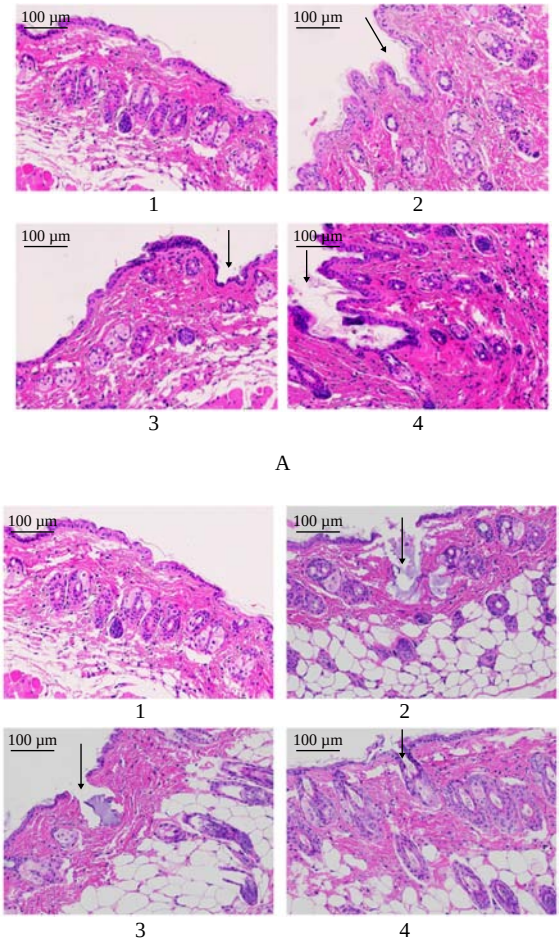
激光共聚焦显微镜可以扫描到样品表面和深层次的荧光，可观察荧光样品的立体分布情况[14]。以 PMVE/MAH 和 PVA（1 ∶ 1）为基质材料，0.1% 的罗丹明 B 为模型药物，制备 HMNs（80 ℃交联 2 h），用激光共聚焦显微镜观察药物在 HMNs 内部的分布情况。荧光成像结果（图 11）显示，制备的 HMNs 呈圆锥体，罗丹明 B 均匀分布在整个针体上。

3　总结和讨论

热交联法制备 HMNs 避免了化学交联剂的使用，制备工艺简单、交联结构稳定。然而，热交联往往需要高温使聚合物分子链加速运动，以促进形成含有共价键的交联结构，这不利于药物的稳定，限制了可载带药物的类别。

PVA 富含羟基，是 HMNs 体系的一种理想聚合物。PMVE/MAH 可水解转化为可溶胀的游离酸形式（PVM/MA），产生大量羧基，适于较低温、快速热交联制备 HMNs。

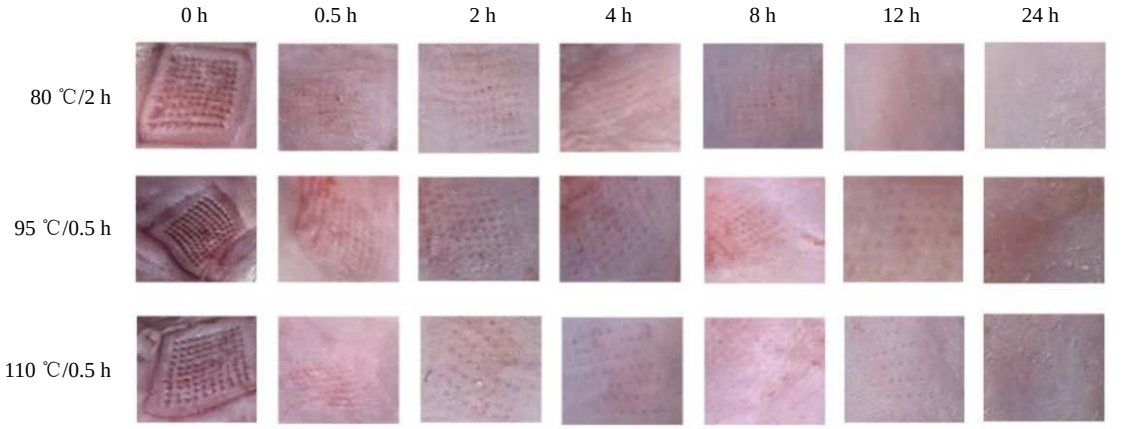
本研究探索了热交联微针制备过程中影响 HMNs 性能的因素，包括聚合物种类（PVA 与 PVM/MA 或 PMVE/MAH 复合）、热交联温度（80、95 和 110 ℃）和交联时间（0.5、1、2 和 5 h），对微针形态、溶胀或溶解、机械性能的影响；同时评估了在较低温度和较短时间条件下交联，制备理化性能优异的 HMNs 可行性。结果表明，在 80 ℃ /2 h、95 ℃ /0.5 h、110 ℃ /0.5 h 和 80 ℃ /2 h、95 ℃ /1 h、110 ℃ /0.5 h 的热交联条件下，分别采用 PVM/MA 与 PVA 和 PMVE/MAH 与 PVA 制备的 HMNs 均具有良好的机械强度及溶胀性能。此外，聚合物种类、热交联的温度和时间均会影响 HMNs 的交联程度。



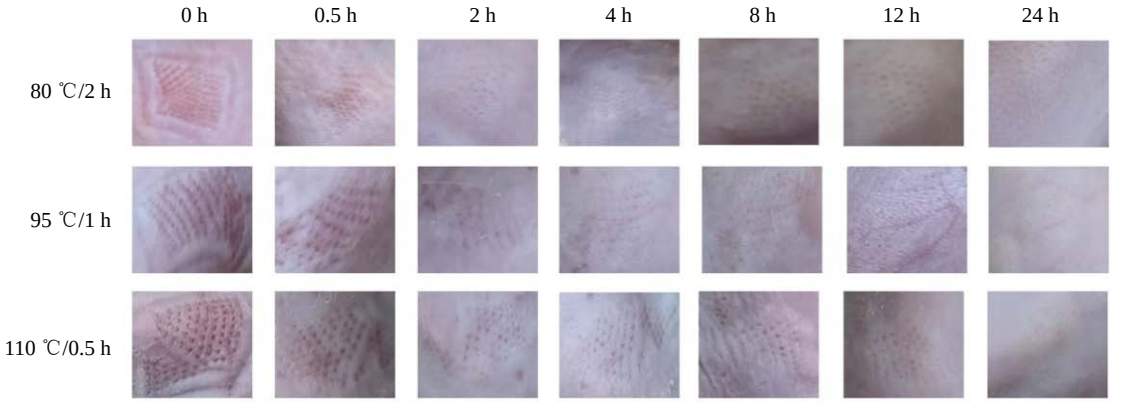
A—F1 组 HMNs 刺入的皮肤（1—未经处理的小鼠皮肤；2—80 ℃ /2 h；3—95 ℃ /0.5 h；4—110 ℃ /0.5 h）；B—F2 组 HMNs 刺入的皮肤（1—未经处理的小鼠皮肤；2—80 ℃ /2 h；3—95 ℃ /0.5 h；4—110 ℃ /0.5 h）。

图 8　组织学切片（×200）

Fig.8　Histological Sections（×200）



A

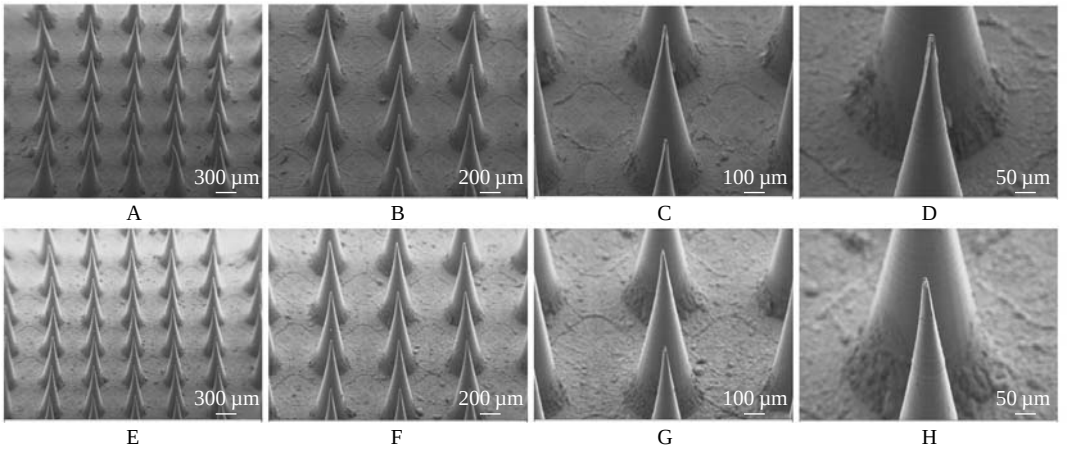


B

A—F1 组；B—F2 组。

图 9　插入过 HMNs 的皮肤恢复性试验

Fig.9　Recovery Study of Skin Inserted by HMNs

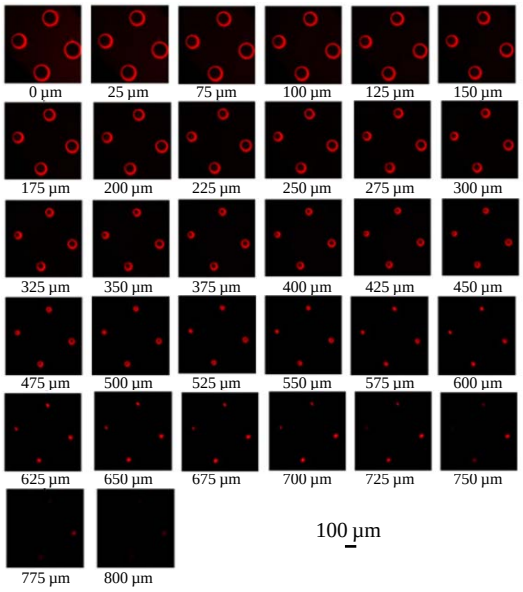


A ～ D—未交联微针（放大倍数：A 为 30 倍，B 为 50 倍，C 为 100 倍，D 为 200 倍）；

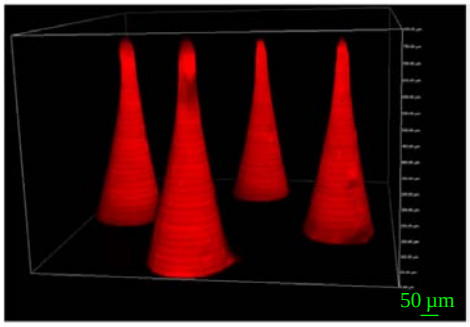
E ～ H—80 ℃交联 2 h 所得微针（放大倍数：E 为 30 倍，F 为 50 倍，G 为 100 倍，H 为 200 倍）。

图 10　F2 组微针的 SEM 照片

Fig.10　SEMs Images of F2 Group Microneedles



A



B

图 11　HMNs 药物分布平面图（A）及 3D 成像图（B）
Fig.11　2D Image(A) and 3D Image(B) of Drug Distribution in HMNs

热交联温度的升高和（或）热交联时间的延长，会使 HMNs 溶胀率降低、交联程度增加、机械强度增加。在相同的热交联工艺条件下，F1 组 HMNs 的交联程度高于 F2 组 HMNs。

综上所述，本研究开发了无需添加化学交联剂的 HMNs 制备工艺，80 ℃热交联 2 h 即可使 PVA 中的羟基与 PVM/MA 或 PMVE/MAH 中的羧基形成以酯键交联的网络，扩大了适用药物的范围。并且，本研究可通过控制热交联条件，制备具有不同的交联程度和溶胀率的 HMNs，满足多种药物释放需求，且不良反应较小，具有临床应用潜力。

参考文献：

[1] DONNELLY R F, THAKUR R R S, ZAID-ALKILANI A, *et al*. Hydrogel-forming microneedle arrays exhibit antimicrobial properties: potential for enhanced patient safety [J]. *Int J Pharm*, 2013, **451**(1/2): 76-91.

[2] COURTENAY A J, MCALISTER E, MCCRUDDEN M T C, *et al*. Hydrogel-forming microneedle arrays as a therapeutic option for transdermal esketamine delivery [J]. *J Control Release*, 2020, **322**: 177-186.

[3] CALÓ E, DE BARROS J M S, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ M, *et al*. Antimicrobial hydrogels based on autoclaved poly(vinyl alcohol) and poly(methyl vinyl ether-alt-maleic anhydride) mixtures for wound care applications [J]. *RSC Adv*, 2016, **6**(60): 55211-55219.

[4] PAN X E, LI Y S, PANG W L, *et al*. Preparation, characterisation and comparison of glabridin-loaded hydrogel-forming microneedles by chemical and physical cross-linking [J]. *Int J Pharm*, 2022, **617**: 121612.

[5] DONNELLY R F, THAKUR R R S, GARLAND M J, *et al*. Hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced transdermal drug delivery [J]. *Adv Funct Mater*, 2012, **22**(23): 4879-4890.

[6] DEMIR Y K, METIN A U, SATIROGLU B, *et al*. Poly(methyl vinyl ether-*co*-maleic acid)-pectin based hydrogel-forming systems: gel, film, and microneedles [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, **117**: 182-194.

[7] AUNG N N, MYAT Y Y, NGAWHIRUNPAT T, *et al*. Evaluation of thermally crosslinked poly(acrylic acid-*co*-maleic acid)(PAMA)/poly(vinyl alcohol)(PVA) microneedle arrays [J]. *Key Eng Mater*, 2019, **819**(45): 45-50.

[8] AUNG N N, NGAWHIRUNPAT T, ROJANARATA T, *et al*. Fabrication, characterization and comparison of alpha-arbutin loaded dissolving and hydrogel forming microneedles [J]. *Int J Pharm*, 2020, **586**: 119508.

[9] TEKKO I A, CHEN G Y, DOMINGUEZ-ROBLES J, *et al*. Development and characterisation of novel poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone)-based hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced and sustained transdermal delivery of methotrexate [J]. *Int J Pharm*, 2020, **586**: 119580.

（下转第1492页）

[13] AFSHAR S, RASHEDI S, NAZOCKDAST H, *et al*. Preparation and characterization of electrospun poly(lactic acid)-chitosan core-shell nanofibers with a new solvent system[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, **138**: 1130-1137.

[14] PAL A K , KATIYAR V. Theoretical and analyzed data related to thermal degradation kinetics of poly(L-lactic acid)/chitosan-*grafted*-oligo L-lactic acid(PLA/CH-*g*-OLLA) bionanocomposite films[J]. *Data Brief*, 2017, **10**: 304-311.

[15] GARTNER H, LI Y, ALMENAR E. Improved wettability and adhesion of polylactic acid/chitosan coating for bio-based multilayer film development[J]. *Appl Surf Sci*, 2015, **332**: 488-493.

[16] LI H, CHENG W L, LIU K, *et al*. Reinforced collagen with oxidized microcrystalline cellulose shows improved hemostatic effects[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, **165**: 30-38.

[17] 杜立中, 马　霞, 张国祖, 等. 粉碎粒度对黄芪中主要成分溶出率的影响[J]. 畜牧与兽医, 2014, **46**(9): 104-110.

(上接第1484页)

[10] BIRCK C, DEGOUTIN S, TABARY N, *et al*. New crosslinked cast films based on poly(vinyl alcohol): preparation and physico-chemical properties[J]. *Express Polym Lett*, 2014, **8**(12): 941-952.

[11] GE T J, ZHANG M L, TANG K H, *et al*. Diisocyanate-modified graphene oxide/hydroxyl-terminated silicone rubber composites for improved thermal conductivity[J]. *Mater Chem Phys*, 2020, **252**: 123250.

[12] LABUSCHAGNE P W, ANDRE GERMISHUIZEN W, VERRYN S M C, *et al*. Improved oxygen barrier performance of poly(vinyl alcohol) films through hydrogen bond complex with poly(methyl vinyl ether-*co*-maleic acid)[J]. *Eur Polym J*, 2008, **44**(7): 2146-2152.

[13] NGUYEN H X, BOZORG B D, KIM Y, *et al*. Poly(vinyl alcohol) microneedles: fabrication, characterization, and application for transdermal drug delivery of doxorubicin[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, **129**: 88-103.

[14] BOHN S, SPERLICH K, ALLGEIER S, *et al*. Cellular *in vivo* 3D imaging of the cornea by confocal laser scanning microscopy[J]. *Biomed Opt Express*, 2018, **9**(6): 2511-2525.