

木芙蓉叶有效组分水凝胶微针的制备及对急性乳腺炎大鼠的药效学研究

李月平¹, 陈晓兰¹, 谢树才¹, 高 雍¹, 湛文元^{1,2}, 杨芳芳^{1*}

1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025

2. 毕节医学高等专科学校, 贵州 毕节 551700

摘要: **目的** 制备木芙蓉叶有效组分水凝胶微针, 系统考察其理化性质, 并评价其对急性乳腺炎模型大鼠的治疗效果与作用机制。**方法** 采用化学交联法结合模具法制备木芙蓉叶有效组分水凝胶微针。以微针成型性、溶胀度、刺孔率为评价指标, 通过单因素实验筛选关键影响因素, 结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (BBD-RSM) 优化交联温度、干燥方式、基质 [聚甲基乙烯基醚共聚马来酸 (S-97)、聚乙二醇 10000 (PEG 10000)、无水碳酸钠 (Na_2CO_3)] 用量等工艺参数。利用扫描电子显微镜 (SEM) 和体视显微镜表征微针的外观形态与结构特征; 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定微针中芦丁、异槲皮苷、山柰酚的含量; 通过铝箔穿刺实验、离体鼠皮穿刺实验, 结合穿刺后鼠皮的苏木精-伊红 (HE) 染色组织病理学检查, 综合评估微针的机械穿刺性能; 同时考察微针的体外溶胀性能及在体皮肤屏障修复能力。建立脂多糖 (LPS) 诱导的大鼠急性乳腺炎模型, 通过乳腺组织 HE 染色, 观察病理损伤改善情况; 免疫组化法检测乳腺组织中巨噬细胞标志物 CD68⁺ 的表达水平; 酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测乳腺组织中肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 3 种促炎因子的表达量。**结果** 确定最优制备工艺: 真空干燥箱程序升温干燥, 交联温度 80 $^{\circ}\text{C}$; 微针基质最优处方为 S-97 0.97 g、PEG10000 0.43 g、 Na_2CO_3 0.11 g。该工艺下制备的微针铝箔刺孔率达 $(97.11 \pm 1.27)\%$, 溶胀度为 $(578.55 \pm 50.45)\%$, 且成型性良好。微针可稳定负载 3% 的木芙蓉叶最佳配伍组分 (每克基质含 45 mg 配伍组分), 每片微针含药量 1.5 mg; HPLC 检测显示, 微针中芦丁、异槲皮苷、山柰酚的质量分数分别为 (1.1010 ± 0.0132) 、 (0.1653 ± 0.0024) 、 $(0.0354 \pm 0.0004) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。形态表征结果显示, 微针为圆形贴片, 表面光滑、阵列完整, 共含 385 颗圆锥状针头, 针体长度约 550 μm 、底部直径约 300 μm 、针尖间距约 700 μm 。透皮实验表明, 48 h 内微针中芦丁的累积渗透率达 90.7%, 异槲皮苷与山柰酚的累积渗透率均约为 77.0%, 透皮性能优异。药效学结果显示, 与模型组相比, 木芙蓉叶有效组分微针高剂量组可显著降低大鼠乳腺组织中 CD68⁺ 的活性 ($P < 0.01$), 同时显著下调 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 3 种促炎因子的表达水平 ($P < 0.01$), 且乳腺组织病理损伤明显减轻。**结论** 成功制备的木芙蓉叶有效组分水凝胶微针具有良好的机械穿刺性能、药物负载能力与透皮释药特性, 可有效抑制 LPS 诱导的大鼠急性乳腺炎。其作用机制可能与降低乳腺组织中 CD68⁺ 巨噬细胞活性, 抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 促炎因子表达, 从而减轻炎症反应相关。

关键词: 木芙蓉叶; 芦丁; 异槲皮苷; 山柰酚; 水凝胶微针; 机械性能; 急性乳腺炎

中图分类号: R944.4; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)11-3239-14

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.016

Preparation of hydrogel microneedles of effective components of *Hibiscus mutabilis* leaves and their pharmacodynamics on acute mastitis in rats

LI Yueping¹, CHEN Xiaolan¹, XIE Shucui¹, GAO Yong¹, CHEN Wenyuan^{1,2}, YANG Fangfang¹

1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Bijie Medical College, Bijie 551700, China

Abstract: **Objective** To prepare water gelatinous microneedles of effective components from *Hibiscus mutabilis* leaves, systematically investigate their physicochemical properties, and evaluate their therapeutic effects and mechanisms on a rat model of acute mastitis. **Methods** The water gelatinous microneedles were prepared by a chemical cross-linking method combined with a mold

收稿日期: 2025-06-03

基金项目: 贵州省高层次创新型人才项目 (黔科合平台人才-GCC[2023]037); 国家苗药工程技术研究中心能力提升项目 (黔科合中引地[2023]006); 毕节医学高等专科学校科研项目 (BJYZXK202415)

作者简介: 李月平 (1999—), 女, 汉族, 硕士研究生, 研究方向为中药与民族药新剂型与新制剂。E-mail: 3096689679@qq.com

*通信作者: 杨芳芳 (1977—), 女, 副教授, 研究方向为中药与民族药新剂型与新制剂。E-mail: 2286431531@qq.com

method. The formation, swelling degree, and puncture rate of the microneedles were used as evaluation indicators. The key influencing factors were screened by single-factor experiments, and the process parameters such as cross-linking temperature, drying method and matrix (S-97, PEG10000, and Na_2CO_3) dosage were optimized by Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM). The appearance morphology and structural characteristics of the microneedles were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and stereomicroscopy. The drug loading and content of rutin, isorhamnetin, and kaempferol in the microneedles were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The mechanical puncture performance of the microneedles was comprehensively evaluated by aluminum foil puncture experiments, *ex vivo* rat skin puncture experiments, and histopathological examination of the punctured rat skin by HE staining. Meanwhile, the *in vitro* swelling performance and skin barrier repair ability of the microneedles were investigated. A rat model of acute mastitis induced by lipopolysaccharide (LPS) was established. The improvement of pathological damage in the mammary gland tissue was observed by HE staining. The expression level of the macrophage marker CD68^+ in the mammary gland tissue was detected by immunohistochemistry. The expression levels of three pro-inflammatory factors, $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, and IL-1 β , in the mammary gland tissue were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The optimal preparation process was determined as follows: drying in a vacuum drying oven with a cross-linking temperature of 80 °C. The optimal prescription for the microneedle matrix was 0.97 g of S-97, 0.43 g of PEG10000, and 0.11 g of Na_2CO_3 . Under this process, the aluminum foil puncture rate of the prepared microneedles was $(97.11 \pm 1.27)\%$, the swelling degree was $(578.55 \pm 50.45)\%$, and the formation was good. The microneedles could stably load 3% of the best combination of effective components from *H. mutabilis* leaves (45 mg of the combination per gram of matrix), with a drug content of 1.5 mg per microneedle. HPLC detection showed that the mass fractions of rutin, isorhamnetin, and kaempferol in the microneedles were $(1.101 0 \pm 0.013 2)$, $(0.165 3 \pm 0.002 4)$, and $(0.035 4 \pm 0.000 4) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. Morphological characterization results showed that the microneedles were circular patches with smooth surfaces and complete arrays, containing 385 conical needle tips, with a needle length of approximately 550 μm , a bottom diameter of approximately 300 μm , and a tip spacing of approximately 700 μm . Transdermal experiments indicated that the cumulative penetration rate of rutin from the microneedles reached 90.7% within 48 h, and the cumulative penetration rates of isorhamnetin and kaempferol were approximately 77.0%, demonstrating excellent transdermal performance. Pharmacological results showed that compared with the model group, the high-dose group of *H. manihot* leaves effective component microneedles significantly reduced the activity of CD68^+ macrophages in rat mammary gland tissue ($P < 0.01$), and significantly downregulated the expression levels of $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 β , and IL-6 pro-inflammatory factors ($P < 0.01$), with significant alleviation of pathological damage in the mammary gland tissue. **Conclusion** The successfully prepared water gelatinous microneedles of effective components from *H. mutabilis* leaves have good mechanical puncture performance, drug loading capacity, and transdermal drug release characteristics, and can effectively inhibit LPS-induced acute mastitis in rats. The therapeutic mechanism may be related to the reduction of CD68^+ macrophage activity in mammary gland tissue and the inhibition of $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 β , and IL-6 pro-inflammatory factor expression, thereby alleviating the inflammatory response.

Key words: *Hibiscus mutabilis* L. leaves; rutin; isorhamnetin; kaempferol; hydrogel microneedles; mechanical properties; acute mastitis

急性乳腺炎是乳腺的急性化脓性感染，主要累及乳腺导管和周围结缔组织，临床表现为乳腺局部疼痛、红肿，伴发热、寒战等全身症状^[1]。研究显示，急性乳腺炎是哺乳期妇女常见的产后疾病，发病率高达 33%^[2]。临床上，西医多采用抗生素药物治疗或脓肿穿刺引流等手术干预^[3]，效果显著。但长期使用抗生素易导致耐药性，造成炎症反复发作，影响后续治疗；手术则存在创伤性，患者接受度较低^[4]。相比之下，中医通过中药口服、外敷及针灸、推拿等疗法治疗，具有安全有效的特点^[5-6]。

木芙蓉叶为锦葵科植物木芙蓉 *Hibiscus mutabilis* L. 的干燥叶，具有清肺凉血、散热解毒、

消肿排脓等功效^[7]。陈庆雨等^[8]采用新鲜木芙蓉叶捣烂后与茶油调和外敷治疗急性乳腺炎，疗效显著，但存在使用不便的问题。临床上常用的乳腺宁搽剂也含木芙蓉叶，治疗急性乳腺炎效果显著。本课题组将其制备为改良剂型（芙蓉凝胶）^[9]，证实其对脂多糖（LPS）诱导的急性乳腺炎模型大鼠具有一定改善作用。前期课题组通过质量源于设计理念（QbD）、设计空间及实验验证，对木芙蓉叶中 5 种主要成分抗乳腺炎配伍方案进行筛选，结果显示芦丁、异槲皮苷、山柰酚进行配伍组合时效果最好且效果与地塞米松相近^[10]。水凝胶微针作为新型经皮给药制剂，可通过针体刺入皮肤后吸收组织间液而膨胀，

进而释放药物发挥治疗作用^[11]。该制剂能穿透表皮直接给药,具有安全、有效、对人体无痛感等优势。基于此,本研究将上述筛选出的 3 种成分进一步制成水凝胶微针制剂,开展系统性研究开发。

本实验采用单因素实验结合 Box-Behnken 设计响应面法(BBD-RSM),优选木芙蓉叶有效组分水凝胶微针的基质工艺参数,并对其进行表征、机械性能考察及药效学评价,为木芙蓉叶有效组分经皮给药制剂的研制提供实验依据。

1 材料

1.1 药物

芦丁(批号 230201)、异槲皮苷(批号 230117)、山柰酚(批号 230321),质量分数均为 98%,均购自成都指标化纯生物技术有限公司;乳腺宁帖(批号 202212061),广西威诺敦医疗器械有限公司。

1.2 试剂

聚甲基乙烯基醚共聚马来酸(S-97,批号 D1923169),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;聚乙二醇 10000(PEG 10000,批号 A14GS14205),上海源叶生物科技有限公司;无水碳酸钠(Na_2CO_3 ,批号 190609),北京化工厂有限责任公司;无水乙醇(批号 20221101),重庆川东化工(集团)有限公司;甲醇(批号 20230102),天津市北辰区方正试剂厂;冰醋酸(批号 202304),天津市科密欧化学试剂有限公司;乙腈(批号 22055173),美国 TEDIA 天地试剂公司;亚甲基蓝(批号 2016912),天津市科密欧化学试剂有限公司;脂多糖(LPS,批号 0000189847),美国 Sigma-Aldrich 公司;乌拉坦(批号 C15354509),上海麦克林生化科技股份有限公司;4%多聚甲醛(批号 0621A23),北京雷根(Leagene)生物技术有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS,批号 20230301),北京索莱宝科技有限公司;牛肿瘤坏死因子(TNF- α)试剂盒(批号 202212)、牛白细胞介素 6(IL-6)试剂盒(批号 202304)、牛白细胞介素 1 β (IL-1 β)试剂盒(批号 202212),均购自深圳子科生物科技有限公司。

1.3 仪器

PDMS 阴模(圆形贴片,385 颗针头,针体呈圆锥状,针长约为 550 μm ,底部直径约为 300 μm ,针尖约为 700 μm),台州微芯医药科技有限公司;JA2003 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;DZ-2BCIV 真空干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;TD5A-120 高速离心机,常州金坛良友仪

器有限公司;SK8210HP 超声清洗仪,上海科导超声仪器有限公司;1260 高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;FEG 250 扫描电镜,Quantum 量子科学仪器贸易(北京)有限公司;SZX7 体视显微镜,奥林巴斯(中国)有限公司;RQJ-12B 药物透皮扩散试验仪,上海黄海药检仪器;FlexStation3 酶标仪,美谷分子仪器(上海)有限公司。

1.4 动物

健康昆明种小鼠,体质量 18~22 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,生产许可证号为 SCXK(湘)2022-0011。健康 SPF 级雌性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购于贵州中医药大学动物研究所,实验动物生产许可证号 SCXK(黔)2021-0003。所有动物实验遵循贵州中医药大学伦理委员会有关实验动物管理和使用的规定,均符合 3R 原则,伦理审查编号 20230052。

2 方法与结果

2.1 水凝胶微针的制备

基于文献报道的制备微针的物理交联方法^[12]和预试验结果,本研究采用化学交联法^[13]和模具法^[12]制备水凝胶微针。精密称取处方量的 S-97、PEG10000、 Na_2CO_3 ,用 3 mL 纯水溶解,搅拌混合制备均一透明的基质溶液。参照前期经细胞实验筛选的最佳药物比例(芦丁、异槲皮苷、山柰酚质量浓度分别为 104.0、54.0、6.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)用少许乙醇溶解后与基质溶液混匀,4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min 脱气,取上述混合溶液均匀注入微针模具中,4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取出干燥,脱模,即得。同法不加药制备空白水凝胶微针。

2.2 芦丁、异槲皮苷、山柰酚的含量测定

2.2.1 色谱条件^[14] 采用 Dikma C₁₈(250 mm $\times$ 4.5 mm, 5 μm)色谱柱;流动相为乙腈-0.5%冰醋酸,梯度洗脱 0~3 min, 20%乙腈, 3~15 min, 20% $\rightarrow$ 32%乙腈, 15~20 min, 32% $\rightarrow$ 37%乙腈, 20~25 min, 37% $\rightarrow$ 42%乙腈, 25~30 min, 42% $\rightarrow$ 45%乙腈;检测波长 370 nm;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;体积流量 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量 10 μL 。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取芦丁 15.37 mg、异槲皮苷 8.00 mg、山柰酚 4.18 mg 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,配制成混合对照品母液,其中各成分的质量浓度分别为:芦丁 1.537 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 0.800 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、山柰酚 0.418 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.3 供试品溶液的制备 取 1 片制备好的载药水凝胶微针,精密称定质量,置 50 mL 量瓶中加入 35 mL 70%乙醇超声 45 min 后,用 70%乙醇补足缺失的质量,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。取 1 片制备好的空白水凝胶微针,同法制备空白微针供试品溶液。

2.2.4 专属性考察 分别取空白溶剂、空白水凝胶微针供试品溶液、混合对照品溶液、木芙蓉叶有效组分水凝胶微针供试品溶液,按“2.2.1”色谱条件进样,结果如图 1 所示,辅料未造成干扰,该方法专属性良好。

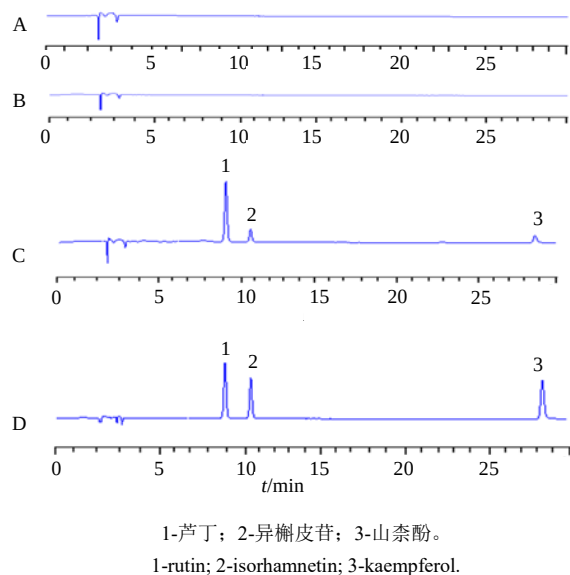


图 1 空白溶剂 (A)、空白水凝胶微针 (B)、木芙蓉叶有效组分水凝胶微针 (C)、混合对照品 (D) 溶液的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank solvent (A), blank hydrogel microneedle sample (B), effective component of *H. mutabilis* leaves hydrogel microneedle sample (C), and mixed reference substance (D) solution

2.2.5 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品母液,用甲醇稀释成系列质量浓度的对照品溶液:其中含芦丁 153.70、38.43、19.21、9.61、4.80、2.40、1.20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;含异槲皮苷 80.00、20.00、10.00、5.00、2.50、1.25、0.63 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;含山柰酚 41.80、10.45、5.23、2.61、1.31、0.65、0.33 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,以各成分质量浓度为横坐标 (X)、色谱峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归,得到回归方程分别为:芦丁 $Y=11.904 X-0.027 3$, $R^2=0.999 9$;异槲皮苷 $Y=16.303 X-0.246 2$, $R^2=1.000 0$;山柰酚 $Y=42.174 X-10.288$, $R^2=0.999 9$ 。线性范围:芦丁 1.20~

153.70 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、异槲皮苷 0.63~80.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、山柰酚 0.33~41.80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.6 精密度考察 取“2.2.2”项下制备的混合对照品母液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次。计算各成分的 RSD 值分别为芦丁 1.18%、异槲皮苷 0.64%、山柰酚 0.96%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 取“2.2.3”项下供试品溶液,在室温下分别放置 0、2、4、6、8、12、24 h,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。计算各成分 RSD 值分别为芦丁 1.40%、异槲皮苷 1.17%、山柰酚 2.98%,表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性考察 取“2.1”项下水凝胶微针,按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。计算各成分的 RSD 值分别为芦丁 0.24%、异槲皮苷 1.32%、山柰酚 0.91%,表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率考察 取已知含量的微针 6 片,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别加入适量对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,计算各成分的平均加样回收率分别为芦丁 100.46%、异槲皮苷 99.90%、山柰酚 99.12%,其 RSD 值分别为芦丁 1.00%、异槲皮苷 1.80%、山柰酚 1.66%,回收率较高,表明该方法准确可靠。

2.3 单因素实验优化微针基质处方

预试验结果可知,以 S-97、PEG10000、 Na_2CO_3 混合制备的水凝胶微针溶胀度、成型性、刺孔率较优。基于此,本研究进一步通过单因素实验,考察干燥方式、交联温度及基质用量对水凝胶微针性能的影响。

2.3.1 评价指标的确定

(1) 微针的成型性:观察微针外观有无缺损、是否弯曲、有无气泡,是否易揭模等。

(2) 溶胀度:取水凝胶微针称质量 (M_0),将微针放入适量的纯水中溶胀,5 min 后取出微针,用滤纸吸去表面多余的水分,称质量 (M_t),计算溶胀度。

$$\text{溶胀度}=(M_t-M_0)/M_0$$

(3) 刺孔率:将水凝胶微针以 20 N 的力在铝箔上按压 30 s 后,对光展开观察,若微针刺穿铝箔则有光透过,计算刺孔率。

$$\text{刺孔率}=\text{穿透孔数}/\text{微针针头数}$$

2.3.2 微针干燥方式考察 固定交联温度为 80 $^{\circ}\text{C}$,称取 PEG10000 0.55 g、 Na_2CO_3 0.09 g、S-

971.5 g, 按照“2.1”项下方法制备微针。设置 3 种不同干燥方式进行考察, 分别为室温干燥器干燥 24 h 后转入 80 °C 烘箱交联、烘箱程序升温干燥(从 30 °C 开始, 每 5 分钟升温 5 °C, 直至达到 80 °C)、真空干燥箱干燥(升温方式同烘箱程序升温干燥)。结果如图 2、3 所示, 真空干燥箱程序升温干燥方式下微针的溶胀度均较高, 微针外观和铝箔穿刺情况均良好, 综合评价后, 确定后续实验均采用真空干燥箱程序升温干燥方式。

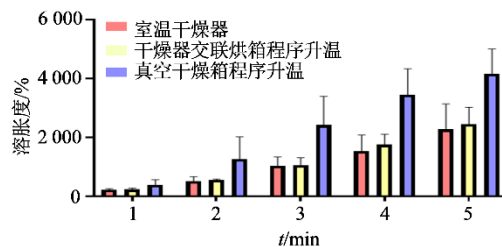


图 2 干燥方式对微针溶胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 2 Effect of drying method on degree of swelling of microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

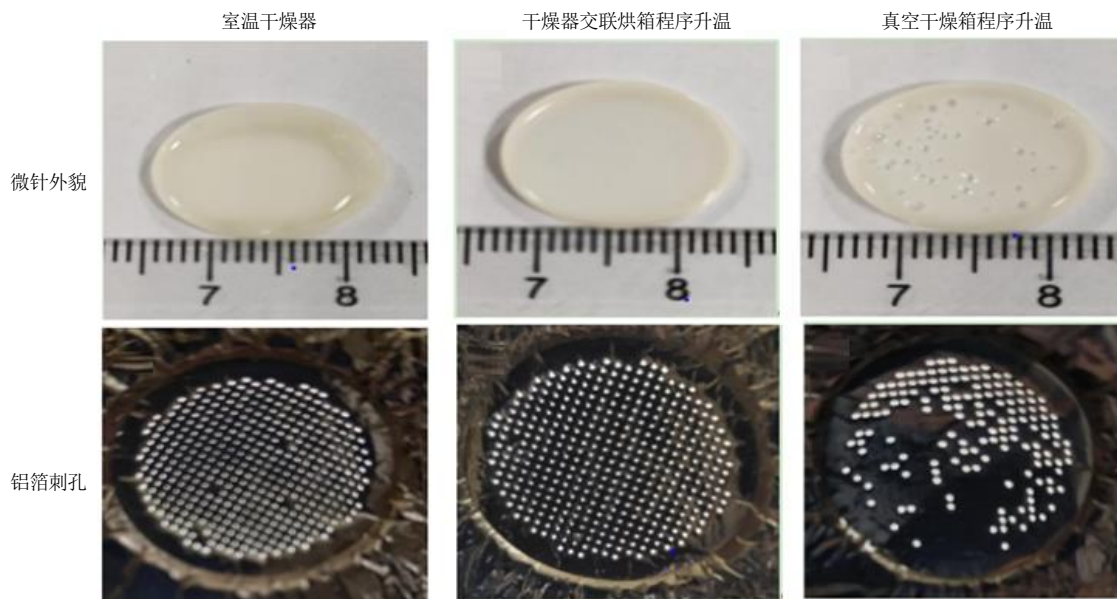


图 3 干燥方式对微针外观及穿刺情况的影响
Fig. 3 Effect of drying method on appearance and puncture condition of microneedles

2.3.3 交联温度考察 固定 PEG10000 0.55 g、Na₂CO₃ 0.09 g、S-971.5 g, 按“2.1”项下制备成水凝胶微针, 并采用真空干燥箱程序升温干燥方式对微针进行干燥。因水凝胶微针需要在高温条件下进行交联, 因此考察 75、80、85 °C 3 种不同交联温度对微针成型性、溶胀度、铝箔刺孔率的影响, 结果见表 1。不同交联温度下微针的成型性及铝箔刺孔率都比较好, 而在 80 °C 条件下交联的微针溶胀度最高, 故选择 80 °C 对微针进行交联。

表 1 交联温度对水凝胶微针性能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Effect of crosslinking temperature on properties of hydrogel microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

温度/°C	成型性	溶胀度/%	铝箔刺孔率/%
75	好	1 611.00±451.67	100.00±1.00
80	好	1 823.00±722.03	100.00±1.00
85	好	1 080.00±81.19	100.00±1.00

2.3.4 基质用量的考察

(1) S-97 用量考察: 称取 PEG10000 0.55 g、Na₂CO₃ 0.09 g, 按“2.1”项下制备成水凝胶微针, 并采用真空干燥箱程序升温干燥方式对微针进行干燥。考察 S-97 用量对微针成型性、溶胀度、铝箔刺孔率的影响, 结果见表 2。S-97 用量为 0.9 g 时, 微针成型性好, 刺孔率和溶解度最高, 后续实验选择 0.3~1.5 g 进行优化。

(2) PEG 10000 用量考察: 固定 S-97 0.9 g、Na₂CO₃ 0.09 g, 按“2.1”项下制备成水凝胶微针, 干燥过程采用真空干燥箱程序升温干燥方式。以微针的成型性、溶胀度及铝箔刺孔率为评价指标, 考察不同 PEG 10000 用量对微针性能的影响, 结果见表 3。对于水凝胶微针而言, 刺孔能力是核心评价指标, 其接决定微针能否有效穿刺皮肤以发挥作用, 需在兼顾其他性能的基础上优先保障刺孔效果。实验

表 2 S-97 用量对水凝胶微针性能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of S-97 dosage on performance of hydrogel microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

S-97 用量/g	成型性	溶胀度/%	铝箔刺孔率/%
0.1	基质稀, 无法成型	—	—
0.3	微针薄, 按压易碎	微针溶解	58.00±0.03
0.9	成型性好	690.00±25.75	100.00±0.05
1.5	成型性好	168.00±52.18	100.00±1.00
2.0	基质稠, 无法成型	—	—

表 3 PEG 10000 用量对水凝胶微针性能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of PEG 10000 dosage on performance of hydrogel microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

PEG 10000 用量/g	成型性	溶胀度/%	铝箔刺孔率/%
0.05	好	62.00±12.65	82.00±12.58
0.10	好	801.00±38.37	80.00±13.23
0.55	好	513.00±27.29	90.06±2.65
1.00	好	597.00±32.13	75.00±15.00
1.50	好	198.00±17.73	40.00±30.14

结果显示, 当 PEG 10000 用量为 0.10 g 时, 微针溶胀度最高, 但铝箔刺孔效果与用量 0.55 g 时存在显著差距; 而用量为 0.55 g 时, 微针成型性良好且铝箔刺孔率达到最高。综合判断, 优选 PEG 10000 用量为 0.55 g, 并确定后续实验在 0.10~1.00 g 用量进一步优化。

(3) Na_2CO_3 用量考察: 固定 PEG 10000 用量为 0.55 g、S-97 用量为 0.9 g, 参照“2.1”项下方法制备水凝胶微针, 采用真空干燥箱程序升温干燥方式处理。考察不同 Na_2CO_3 用量对微针成型性、溶胀度

及铝箔刺孔率的影响, 结果见表 4。实验结果显示, 当 Na_2CO_3 用量为 0.18 g 时, 微针铝箔刺孔率虽达 100%, 但其溶胀度仅为 0.09 g 组的 50% 以下; 而 0.09 g 组的刺孔率与 0.18 g 组无显著差异, 且溶胀性能更优。综合考量刺孔效率与溶胀特性, 确定 Na_2CO_3 优选用量为 0.09 g, 并在后续实验中于 0.03~0.18 g 进一步优化。

表 4 Na_2CO_3 用量对水凝胶微针性能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Na_2CO_3 dosage on performance of hydrogel microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Na_2CO_3 用量/g	成型性	溶胀度/%	铝箔刺孔率/%
0.01	好	126.00±3.29	12.00±7.51
0.03	好	162.00±17.47	64.00±4.04
0.09	好	526.00±26.44	97.00±1.53
0.18	好	246.00±20.17	100.00±0.00
0.25	好	77.00±4.28	53.00±7.64

2.4 BBD-RSM 优化基质处方工艺

2.4.1 鼠皮刺孔率考察 取小鼠腹部皮肤平铺于泡沫板上, 将水凝胶微针用 20 N 的力压于皮肤上, 停留 30 s 后移走微针, 微针刺穿区域涂抹 0.1% 的亚甲基蓝染料, 静置 30 s 后洗掉多余染液, 数码相机采集图像, 人工计数并计算皮肤刺穿率。

2.4.2 模型的建立及方差分析 根据单因素实验结果, 以 S-97 (A)、PEG10000 (B)、 Na_2CO_3 (C) 用量作为影响因素, 以小鼠鼠皮刺孔率 (Y_1)、微针溶胀度 (Y_2) 评价指标, 利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行 Box-Behnken 设计及响应面优化处方, 因素水平、实验设计及结果见表 5。

利用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 5 数据进行拟合, 得方程为: $Y_1=96.02+9.39A-3.43B+4.38C-$

表 5 BBD-RSM 实验因素水平、设计与结果

Table 5 Experimental factors levels, design and results of BBD-RSM

试验号	A/g	B/g	C/g	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	试验号	A/g	B/g	C/g	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$
1	0.3(-1)	0.55(0)	0.03(-1)	10	113	10	0.9	0.10	0.18	70	856
2	0.9(0)	1.0(1)	0.03	50	130	11	1.5	0.55	0.18	30	209
3	0.9	1.0	0.18(1)	90	758	12	0.3	0.10	0.09	10	591
4	0.9	0.1(-1)	0.03	95	1 103	13	0.3	1.00	0.09	25	324
5	1.5(1)	1.0	0.09(0)	10	134	14	0.9	0.55	0.09	90	620
6	1.5	0.55	0.03	20	179	15	0.9	0.55	0.09	95	548
7	0.9	0.55	0.09	98	602	16	1.5	0.10	0.09	50	235
8	0.9	0.55	0.09	95	469	17	0.3	0.55	0.18	10	157
9	0.9	0.55	0.09	95	382						

16.25 $AB+0.12 AC+15.69 BC-67.30 A^2-6.05 B^2-13.72 C^2$ 。 $Y_2=535.40-52.22 A-160.15 B+56.88 C+41.50 AB+12.84 AC+197.23 BC-375.23 A^2+172.03 B^2+4.32 C^2$ 。数学模型 $R^2=0.996\ 3$ ， $R_{adj}^2=0.990\ 0$ ，均大于 0.9，表明该模型是有意义的，失拟项 $P>0.05$ ，表明干扰因素可忽略，模型能很好地反映指标与各影响因素之间的关系，该方程模型拟合较好，方差分析见表 6。 Y_1 方程中， A 、 B 、 C 、 AB 、 BC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 均具有显著性差异 ($P<0.05$ 、 0.01)； Y_2 方程中， B 、 A^2 均具有显著性差异 ($P<0.05$)。

2.4.3 响应面优化与预测 分别采用 Design-Expert 8.0.6 软件绘制两因素直接的三维曲面图，结果见图 4。最终确定，微针基质的最佳处方为：S-97 用量 0.97 g，PEG10000 用量 0.43 g， Na_2CO_3 用量 0.11 g。此时刺孔率为 97%，溶胀度为 580%。

当因素 B (或因素 A) 水平固定时，响应面图中响应值 Y_1 随另一因素 (A 或 B) 水平的降低，呈现先升高后降低的变化趋势，表明两因素在此区间内存在非线性交互作用。当因素 A 水平固定时，响应值 Y_1 随因素 C 水平的升高而降低，提示因素 C 对 Y_1 存在负向主效应；当因素 C 水平固定时，响应值 Y_1 随因素 A 水平的降低，同样呈现先升高后降低的趋势，进一步验证了因素 A 对 Y_1 的非线性影响。

2.4.4 最佳基质处方验证 按上述处方平行制备 3 批水凝胶微针，结果测得刺孔率为 $(97.11\pm1.27)\%$ 、溶胀度为 $(578.55\pm50.45)\%$ ，RSD 分别为 1.31%、0.78%，与预测值接近，说明建立的数学模型可靠。按最佳处方制备的微针外观形貌见图 5-A、B，穿刺结果见图 5-C、D，溶胀结果见图 5-E。

表 6 方差分析
Table 6 ANOVA results

响应值	项目	均方和	自由度	均方	F 值	P 值
Y ₁	模型	23 711.31	9	2 634.59	176.96	<0.000 1
	A	691.41	1	691.41	46.44	0.000 2
	B	92.38	1	92.38	6.21	0.041 5
	C	153.13	1	153.13	10.29	0.014 9
	AB	1 056.25	1	1 056.25	70.95	<0.000 1
	AC	0.06	1	0.061	0.00	0.950 6
	BC	1 003.92	1	1 003.92	67.43	<0.000 1
	A ²	19 070.69	1	19 070.69	1 280.93	<0.000 1
	B ²	154.12	1	154.12	10.35	0.014 7
	C ²	715.80	1	715.80	48.08	0.000 2
	残差	104.22	7	14.89		
	失拟项	71.02	3	23.67	2.85	0.168 7
	纯误差	33.200	4	8.30		
	误差	23 815.53	16			
Y ₂	模型	1 165 000.00	9	129 400.00	4.53	0.029 4
	A	21 392.37	1	21 392.37	0.75	0.415 3
	B	201 200.00	1	201 200.00	7.05	0.032 7
	C	25 878.13	1	25 878.13	0.91	0.372 7
	AB	6 889.00	1	6 889.00	0.24	0.638 3
	AC	672.98	1	672.98	0.02	0.882 3
	BC	1 587 00.00	1	158 700.00	5.56	0.050 5
	A ²	592 800.00	1	592 800.00	20.77	0.002 6
	B ²	124 600.00	1	124 600.00	4.37	0.075 0
	C ²	71.02	1	71.02	0.00	0.961 6
	残差	199 800.00	7	28 543.57		
	失拟项	160 700.00	3	53 580.07	5.49	0.066 8
	纯误差	39 064.80	4	9 766.20		
	误差	1 364 000.00	16			

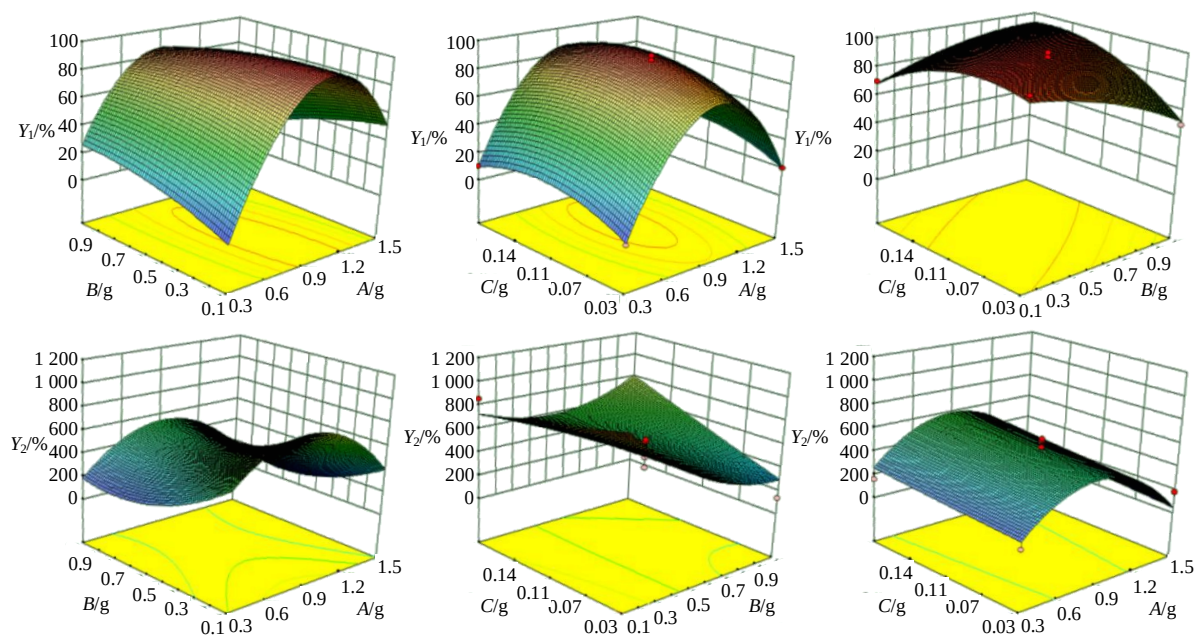


图 4 基质用量与响应值的三维图

Fig. 4 Relationship between amount of matrix and change of microneedles porosity and swelling degree

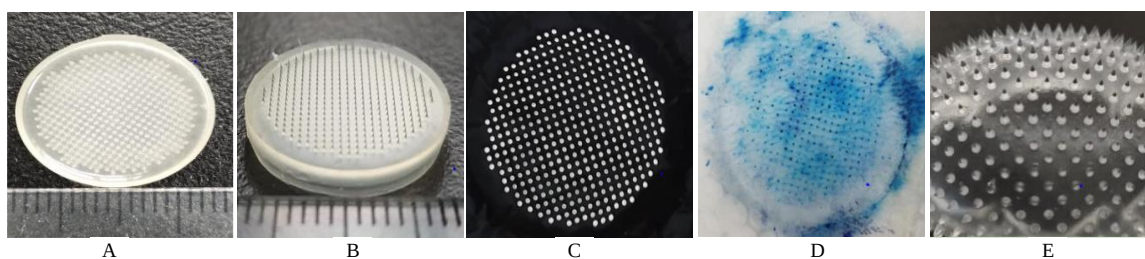


图 5 微针外观 (A、B)、铝箔穿刺 (C)、鼠皮穿刺 (D) 及微针溶胀 (E) 图

Fig. 5 Micro-needle appearance (A, B), aluminum foil puncture (C), mouse skin puncture (D), and micro-needle swelling (E) images

2.5 载药量考察

精密称取基质材料 3 份, 及基质质量 1%、2%、3%、4%、6% 的木芙蓉叶有效组分, 即每克基质中含 15、30、45、60、90 mg 木芙蓉叶有效组分。按“2.3”“2.4”项下确定的最优处方及制备工艺制备载药水凝胶微针, 考察木芙蓉叶有效组分用量对微针成型性、溶胀度、铝箔刺孔率的影响, 结果见表 7; 形态见图 6。当载药量为 4% 时, 微针出现气泡, 成型性较差。考虑到药物性质及释药能力, 在此选择制备载 3% 的木芙蓉叶最佳配伍组分的微针, 用于后续药效学研究, 即每克基质中含 45 mg 的配伍组分。

2.6 水凝胶微针表征

2.6.1 水凝胶微针外貌 数码相机和体视显微镜观察到该制剂为圆形贴片, 呈浅黄棕色, 共有 385

表 7 微针载药量考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 7 Evaluation of microneedle drug loading performance ($\bar{x} \pm s, n=3$)

载药量/%	成型性	溶胀度/%	铝箔刺孔率/%
1	好	313.00 ± 23.12	100.00 ± 0.00
2	好	278.40 ± 18.42	100.00 ± 0.00
3	好	299.00 ± 15.39	100.00 ± 0.00
4	较差	331.00 ± 20.18	100.00 ± 0.05
6	差	355.90 ± 27.63	50.00 ± 2.52

颗针头, 表面光滑, 微针针体呈圆锥状, 整列完整, 针体长度为 550 μm , 底部直径为 300 μm , 针尖距离为 700 μm , 见图 7。

2.6.2 机械性能考察 取按照最优处方制备的水凝胶微针, 按“2.3.1 (3)”项下方法, 测定铝箔穿刺率; 按“2.4.1”项方法, 测定小鼠皮肤穿刺率; 将微针按离体鼠皮穿刺实验方法处理后, 不涂染

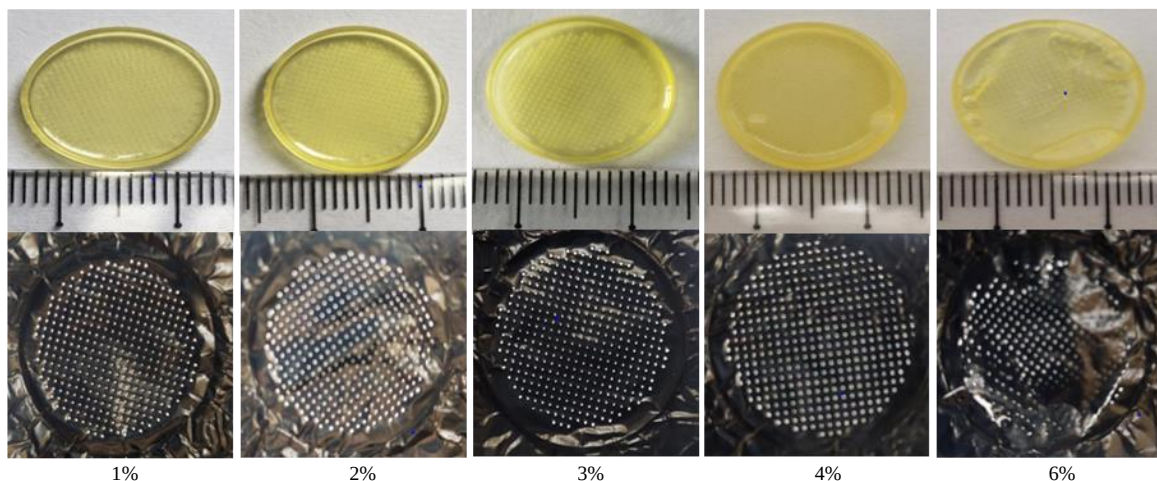
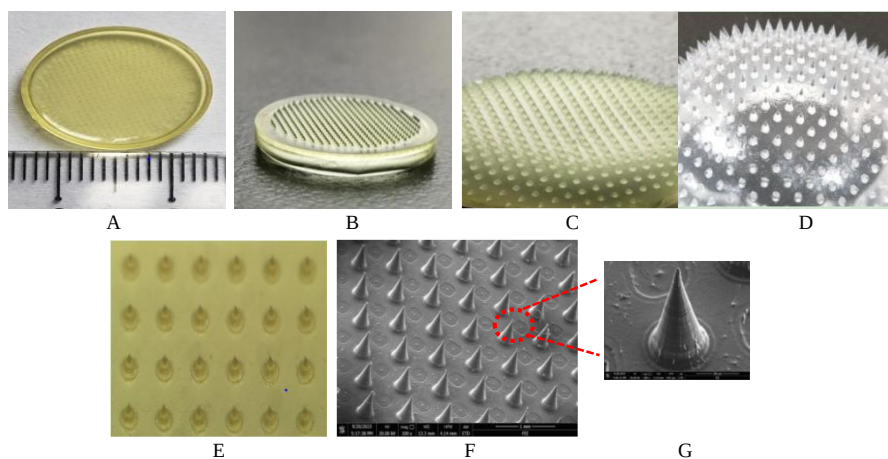


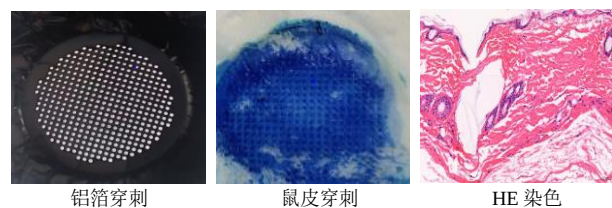
图 6 不同载药量微针形态图及铝箔穿刺图

Fig. 6 Morphological diagram of microneedles with different drug loadings and aluminum foil puncture

图 7 水凝胶微针形貌图 (A)、微针背衬层图 (B)、微针针尖层图 (C)、空白微针溶胀图 (D)、载药微针溶胀图 (E)、体视显微镜下微针图 ($\times 2.5$, F)、微针 SEM 图 (G)Fig. 7 Morphology diagram of hydrogel microneedles (A), back layer diagram of microneedles (B), tip layer diagram of microneedles (C), swelling diagram of blank microneedles (D), swelling diagram of drug-loaded microneedles (E), stereomicroscopic image of microneedles ($\times 2.5$, F), SEM image of microneedles (G)

料, 将鼠皮于 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 进行石蜡切片, HE 染色, 在显微镜下观察微针刺入皮肤情况。结果如图 8 所示。从宏观和微观上看, 铝箔、鼠皮被制备的水凝胶微针刺穿, 表明性能良好。

2.6.3 在体皮肤屏障恢复考察 将健康 SD 大鼠用 20% 乌拉坦麻醉 ($0.4 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), 脱去其腹部毛发, 将水凝胶微针贴片按压于腹部, 停留 30 s, 移除微针。结果如图 9 所示, 0 h 皮肤表面可见清晰的微针针孔阵列, 未出现红肿、渗液等炎症反应, 表明微针可实现有效穿刺且对皮肤刺激性较低; 微针刺入皮肤 2 h 后, 针孔逐渐消失并无其他不良反应发生, 提示皮肤角质层屏障开始逐步恢复。皮肤角质

图 8 微针机械性能考察结果 (HE 染色, $\times 400$)Fig. 8 Investigation results of mechanical properties of microneedles (HE staining, $\times 400$)

层孔道的闭合情况, 既是评估角质层屏障恢复速率的关键指标, 也可间接反映微针对角质层的作用程度, 孔道闭合越快, 说明皮肤屏障修复能力越强, 微针对皮肤的损伤越小^[15]。

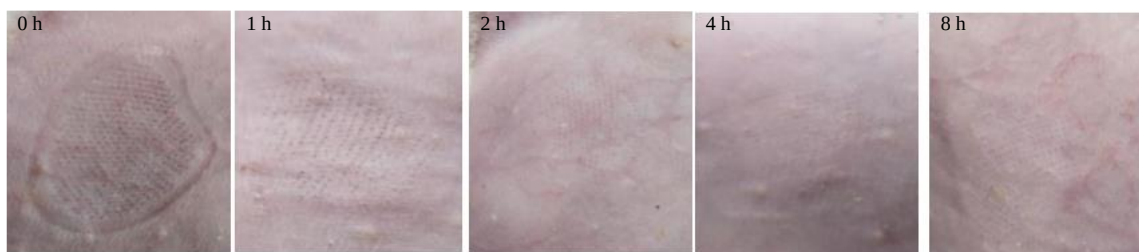


图 9 微针在体皮肤屏障恢复情况

Fig. 9 Recovery of skin barrier *in vivo* by microneedles

2.6.4 溶胀性能考察 将微针按照“2.3.1 (2)”项下处理, 结果见图 10, 微针在 8 min 时, 溶胀度约 4 500%, 之后溶胀度趋于平缓, 15 min 时, 溶胀度约为 4 900%。

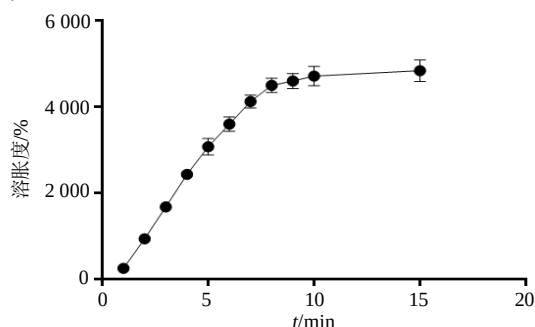


图 10 微针溶胀曲线图 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 10 Microneedle swelling curve ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.6.5 含药量测定 取 3 批样品, 按“2.2.3”项下制备供试品溶液, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样分析, 测得微针中各成分的质量分数分别为芦丁 ($1.101 0 \pm 0.013 2$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、异槲皮苷 ($0.165 3 \pm 0.002 4$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、山柰酚 ($0.035 4 \pm 0.000 4$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.6.6 离体透皮考察 采用 RQJ-12B 型透皮扩散试验仪, 进行体外透皮实验。将大鼠脱颈处死后, 剥离腹部的皮肤, 剔除皮下多余的脂肪组织和结缔组织, 用 0.9%氯化钠溶液清洗干净平铺于密封袋低温保存, 备用。将处理好的带有微针的鼠皮固定在定在供给池与接收池之间, 微针朝供给池, 有效接收面积为 2.4 cm^2 。向接收池内加入 37°C 的 5%聚山梨酯 80 和 30%乙醇+0.9%氯化钠溶液混合溶液 7.5 mL, 排除接收池内气泡, 使皮肤完全接触接收介质。设置水浴温度为 37°C , 转速为 $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。分别于 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、24.0、48.0 h 取接收液 1 mL, 同时补加相同温度和体积的空白接收液。接收液经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 按“2.2.1”色谱条件下进样分析, 计算各成分的累积渗透量

(Q_n) 和累积渗透率^[16]。以累积渗透率为纵坐标、对应的时间为横坐标作图, 绘制药物累积渗透曲线, 结果如图 11 所示。

$$Q_n = (V C_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_i) / A$$

累积渗透率 = Q_n / 载药量

C_n 为第 n 次取样测定浓度, V 为扩散池体积, V_i 为每次取样体积 (mL); C_i 分别为第 i 次取样时接收液的浓度; A 为有效皮肤渗透面积 (cm^2)

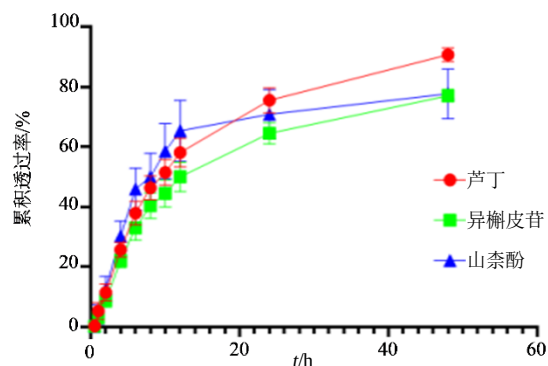


图 11 水凝胶微针各成分累积渗透曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 11 Cumulative penetration curves of each component of hydrogel microneedles ($\bar{x} \pm s, n=3$)

48 h 有效组分水凝胶微针中芦丁的累积渗透率为 90.7%, Q_n 为 $416 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 异槲皮苷的累积渗透率为 77.0%, Q_n 为 $53 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 山柰酚的累积渗透率为 77.0%, Q_n 为 $12 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$; 24 h 3 个有效组分的累积渗透率分别约为 75%、70%、65%, 其透过率 芦丁 > 山柰酚 > 异槲皮苷。

2.7 有效组分水凝胶微针对 LPS 诱导大鼠急性乳腺炎的药效学研究

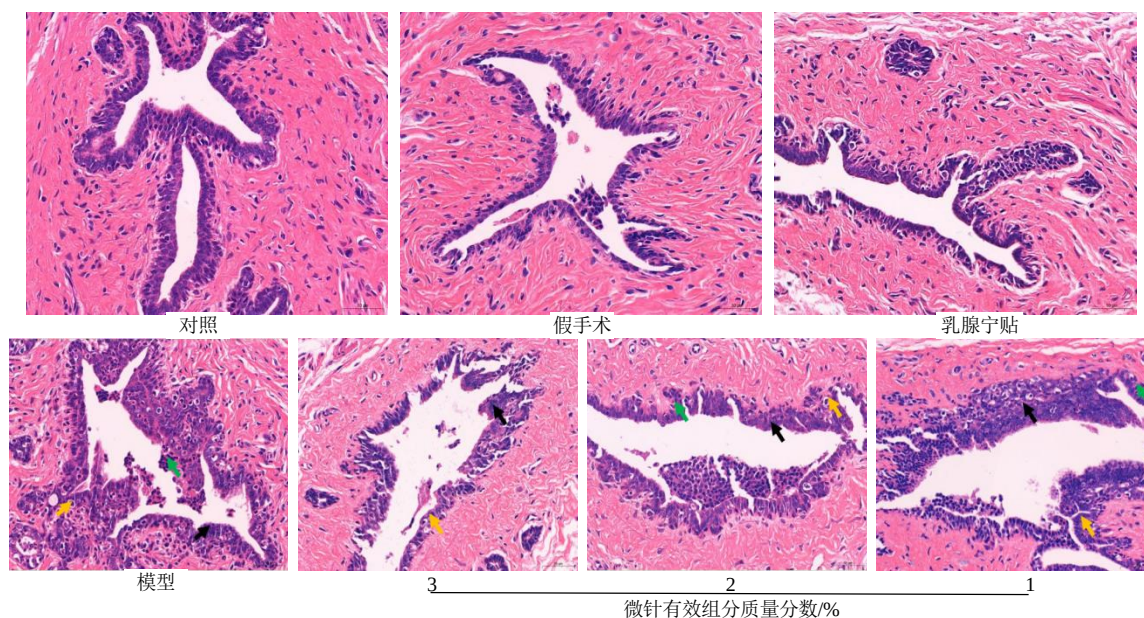
2.7.1 分组、造模及给药 将健康的 SD 雌性大鼠随机分为 7 组: 对照组、假手术组、模型组、乳腺宁贴 (阳性药) 组及水凝胶微针高、中、低剂量组, 每组 8 只。根据预实验结果及该微针载药考察, 设

定有效组分含量：高剂量组每片 4.5 mg（有效组分质量分数 3%）、中剂量组每片 3.0 mg（有效组分质量分数 2%）、低剂量组每片 1.5 mg（有效组分质量分数 1%），造模前，将大鼠用 20%乌拉坦溶液麻醉（4 mL·kg⁻¹），固定，剃毛面积约 8 cm²。造模时，模型组、乳腺宁贴组及水凝胶微针各剂量组大鼠，均于每侧乳腺基部 sc 100 μL LPS 溶液（1 mg·mL⁻¹）；假手术组大鼠于相同部位注射等体积 0.9%氯化钠溶液（排除注射操作本身的影响）；对照组不做任何处理。造模完成后，各组每天给药 1 次，连续 5 d。

2.7.2 组织学检查 给药完成后将大鼠脱颈椎处死后获取第 4 对乳腺，用 4%多聚甲醛溶液固定左侧乳腺用于 HE 染色，结果见图 12。对照组、假手术组和阳性组乳腺组织结构明显，未见其他明显的病理变化。模型组大鼠乳腺组织可见严重的病理变

化，乳腺导管上皮细胞变性坏死较为严重，坏死细胞胞核固缩、碎裂溶解，上皮细胞增生较多，见增生细胞胞核肿大，同时乳腺腺腔内及血管周围见较多核呈分叶状的中性粒细胞浸润，其他未见明显病理改变。有效组分水凝胶微针高、中、低剂量组大鼠乳腺组织见导管上皮细胞不同程度变性坏死，同时伴有上皮细胞不同程度的增生，乳腺腺腔内及血管周围见少量或较多的中性粒细胞浸润，无其他明显病理改变。

与假手术组比较，模型组乳腺组织损伤明显增强，可见明显病理改变。与模型组相比，有效组分水凝胶微针组乳腺病变程度均有降低，其中低剂量组乳腺病变程度相对较重，中剂量组乳腺病变程度次之，高剂量组乳腺病变程度相对较轻。阳性组和有效组分水凝胶微针高剂量组对急性乳腺炎有显著抑制作用。



绿色箭头-中性粒细胞；黄色箭头-导管上皮细胞变性坏死；黑色箭头-增生。

green arrow-neutrophils; yellow arrow-degeneration and necrosis of ductal epithelial cells; black arrow-hyperplasia.

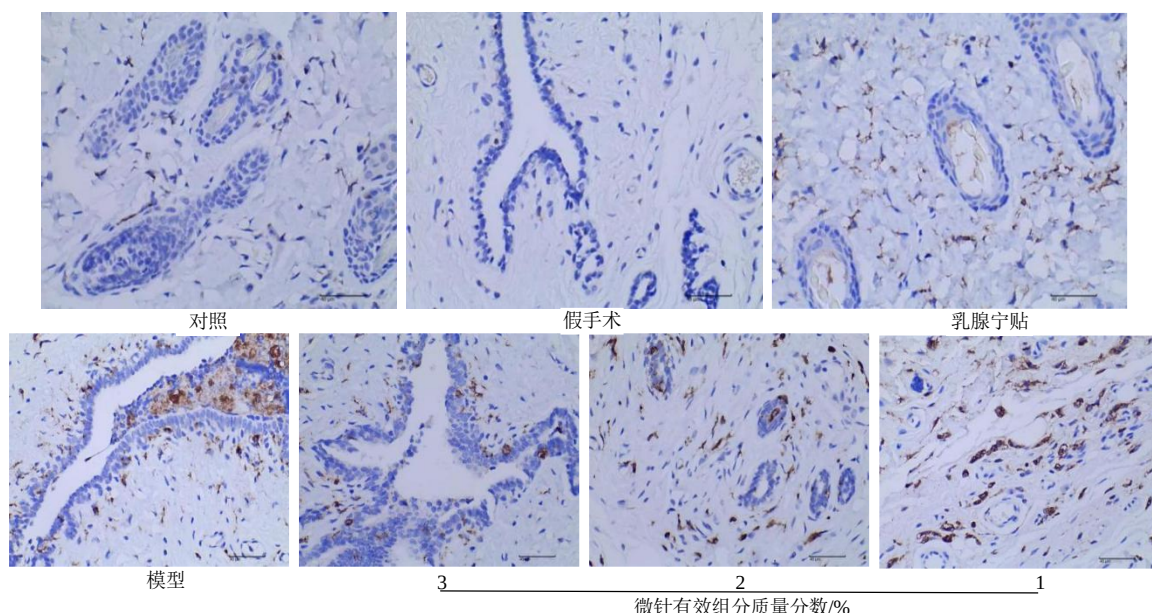
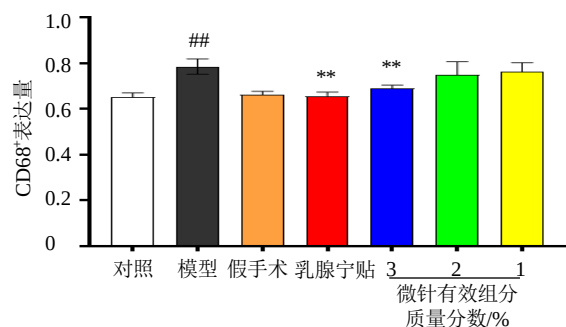
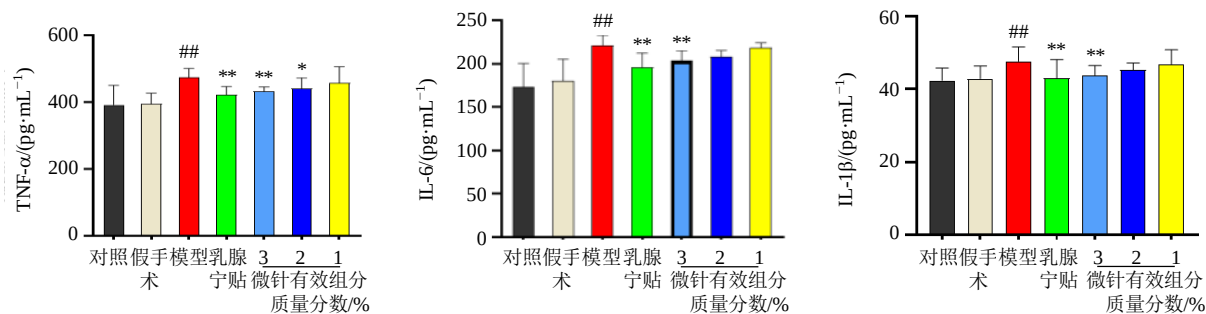
图 12 各组大鼠乳腺组织 HE 染色（×400）

Fig. 12 HE staining of mammary tissues in each group of rats (×400)

2.7.3 免疫组化考察 将乳腺组织进行脱蜡至水化，以 3% H₂O₂ 进行内源性过氧化物酶阻断，再将切片浸入 pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液中进行抗原修复，山羊血清进行封闭，用 CD68 一抗和适量 HRP 标记的聚合物二抗进行孵育，加以 DAB 显色、苏木素复染、乙醇脱水、透明、封片，最后置于光学显微镜下观察、拍照，计算平均吸光度值。乳腺组织 CD68⁺免疫组化结果见图 13，CD68⁺抗体阳性表达为棕色，阴性表达为蓝色。免疫组化半定量结果如

图 14 所示。与假手术组比较，模型组乳腺组织中 CD68⁺表达显著升高（ $P < 0.01$ ），与模型组比较，其余各给药组均能不同程度降低乳腺组织中 CD68⁺表达，其中阳性组与水凝胶高剂量组能显著抑制 CD68⁺抗体表达。

2.7.4 炎症因子表达水平考察 将乳腺组织快速移至 -80℃ 冰箱保存，采用酶联免疫吸附测定法（ELISA）检测乳腺组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6。结果见图 15。与假手术组比较，模型组大鼠乳腺组织

图 13 各组大鼠乳腺组织 CD68⁺免疫组化结果 (×40)Fig. 13 CD68⁺ immunohistochemistry results of rat breast tissue in each group (×40)与假手术组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。## $P < 0.01$ vs sham surgery group; ** $P < 0.01$ vs model group.图 14 各组大鼠乳腺组织中 CD68⁺表达量 ($\bar{x} \pm s, n=7$)Fig. 14 CD68⁺ expression in mammary gland tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)与假手术组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。## $P < 0.01$ vs sham surgery group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.图 15 各组大鼠乳腺组织中各炎症因子表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=7$)Fig. 15 Histogram of each inflammatory factor expression levels of inflammatory factors in mammary gland tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 炎症因子表达水平均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 阳性组、水凝胶微针高剂量组大鼠乳腺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 炎症因子表达水平均明显降低 ($P < 0.01$)。

2.8 统计分析

实验数据用 SPSS 26.0 软件进行处理分析, 方差齐时采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- t 检验; 方差不齐时则采用非参数检验。结果用以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示数据之间具有显著性差异, 使用 GraphPad 8.0.2 进行作图。

3 讨论

本研究围绕木芙蓉叶有效组分水凝胶微针制备及评价展开, 旨在通过新型经皮给药载体解决传

统剂型渗透效率低、靶向性差的问题。在基质材料筛选与工艺优化方面,本研究最终确定 S-97、PEG 10000 及 Na_2CO_3 为复合基质体系。单一聚合物基质难以平衡成型稳定性、机械穿刺能力与药物释放动力学的多维度需求,而该复合体系通过组分间的协同作用,为微针性能优化奠定了基础。值得关注的是,在 BBD-RSM 优化过程中,发现高铝箔穿刺率(反映载药稳定性与机械性能)与高溶胀度(反映药物快速释放能力)存在显著竞争关系,这一矛盾源于各基质组分物理化学性质的本质差异:“低 PEG 10000、高 S-97”的配方虽能提升载药量与穿刺性能,却会延缓溶胀与释药;而“高 PEG 10000、低 S-97”的配方虽能加速释药,却会牺牲机械稳定性。这一结果与现有水凝胶微针研究中“性能权衡”的普遍规律相符,提示微针配方设计需摒弃单一性能最大化的思路,转而结合药物分子特性(如相对分子质量、亲疏水性)与临床需求(如急性炎症的快速起效或慢性疾病的持续释药)进行靶向优化,才能实现制剂综合质量的提升。

从有效组分微针的理化性能与外观表征结果来看,其圆形贴片结构、光洁无气泡的表面、完整排列的 385 枚圆锥状针头(长度 550 μm 、底部直径约 300 μm 、针尖间距约 700 μm),以及优良的皮肤穿刺性能、溶胀性能与机械强度,不仅满足经皮给药制剂的基本应用要求,更与同类植物有效组分微针的表征结果具有一致性,进一步证实了本研究制备工艺的可靠性。尤为重要的是,该微针在 LPS 致大鼠急性乳腺炎模型中的干预效果,为其抗炎作用提供了关键依据。

在炎症评价指标的选择与作用机制探讨上,本研究以 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 (促炎因子)及 CD68^+ (巨噬细胞标志物)为核心指标,这一选择基于充分的文献依据与前期研究基础:已有研究证实急性乳腺炎患者外周血中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 水平显著升高且与炎症严重程度正相关^[17],本课题组前期亦发现 LPS 诱导模型中上述因子同步上调^[18];同时, CD68^+ 的高表达与乳腺炎组织中巨噬细胞募集增加相关^[19],而外源性 IL-4 可通过调控中性粒细胞与巨噬细胞功能加速炎症消退^[20]。基于此,本研究提出“乳腺炎症消退依赖中性粒细胞浸润与巨噬细胞功能共同调控”的假设,并通过实验验证了有效组分微针的抗炎机制——高剂量微针治疗后,大鼠乳腺组织中 CD68^+ 阳性表达率显著降低(提示巨噬细胞

浸润减少),同时 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 水平显著下降,为木芙蓉叶有效组分的抗炎机制提供了新的实验证据。

本研究通过筛选木芙蓉叶抗乳腺炎活性组分、构建水凝胶微针经皮给药系统并优化工艺,不仅为木芙蓉叶有效成分的临床转化提供了新型载体,也为大分子药物经皮给药制剂的研发提供参考。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 汪丽娟. 乳痈汤联合推揉疏通法治疗早期急性乳腺炎临床观察 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(21): 113-115.
Wang L J. Ruyong Decoction combined with pushing and rubbing dredging method in the treatment of early acute mastitis [J]. Chin Med Mod Distance Educ China, 2023, 21(21): 113-115.
- [2] Krogstad P, Contreras D, Ng H, et al. No infectious SARS-CoV-2 in breast milk from a cohort of 110 lactating women [J]. Pediatr Res, 2022, 92(4): 1140-1145.
- [3] 许织文, 罗登榜, 位松. 超声引导下穿刺置双管冲洗引流治疗哺乳期乳腺脓肿的临床应用 [J]. 影像技术, 2022, 34(1): 51-55.
Xu Z W, Luo D B, Wei S. Clinical application of ultrasound-guided puncture and double tube flushing and drainage to treat breast abscess during lactation [J]. Image Technol, 2022, 34(1): 51-55.
- [4] 王丽燕, 李婕. 自拟疏肝化瘀汤辅助超声引导下穿刺抽液治疗非哺乳期乳腺炎的疗效观察及对炎症因子和泌乳素水平的影响 [J]. 中国中医药科技, 2024, 31(1): 66-69.
Wang L Y, Li J. Observation on curative effect of non-puerperal mastitis treated with Shugan Huayu Decoction(疏肝化瘀汤)adjoined ultrasound-guided percutaneous aspiration and influences on inflammatory cytokines and prolactin level [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2024, 31(1): 66-69.
- [5] 程顺梅, 吉冬梅. 哺乳期急性乳腺炎初期的中医综合治疗进展 [J]. 中国民间疗法, 2023, 31(4): 111-115.
Cheng S M, Ji D M. Progress in comprehensive treatment of acute mastitis in lactation with traditional Chinese medicine [J]. China's Naturopathy, 2023, 31(4): 111-115.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2025.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2025.
- [7] 沈梦婷, 白丹妮, 王庆伟, 等. 肉桂及其活性成分抗炎作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3218-

3225.
Shen M T, Bai D N, Wang Q W, et al. Research progress on anti-inflammatory mechanism of *Cinnamomum cassia* and its active components [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(10): 3218-3225.
- [8] 陈庆雨, 杨红英. 木芙蓉叶治疗急性乳腺炎 36 例 [J]. 福建中医药, 2005, 36(6): 55.
Chen Q Y, Yang H Y. Treatment of 36 cases of acute mastitis with *Hibiscus mutabilis* leaves [J]. Fujian J Tradit Chin Med, 2005, 36(6): 55.
- [9] 万静, 陈晓兰, 杨晓梅, 等. 芙蓉凝胶对急性乳腺炎大鼠的抗炎作用及机制 [J]. 中成药, 2021, 43(12): 3321-3325.
Wan J, Chen X L, Yang X M, et al. Mechanism and anti-inflammatory effects of *Hibiscus mutabilis* gel on acute mastitis rats [J]. Chin Tradit Pat Med, 2021, 43(12): 3321-3325.
- [10] 高雍, 陈晓兰, 杨长福, 等. 基于“组分-药效”关系研究木芙蓉叶体外抗脂多糖诱导的急性乳腺炎作用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(5): 1145-1154.
Gao Y, Chen X L, Yang C F, et al. *In vitro* anti-LPS-induced acute mastitis effect of *Hibiscus mutabilis* leaves studied based on “component-efficacy” relationship [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(5): 1145-1154.
- [11] 崔闻宇, 王妍, 刘美琦, 等. 水凝胶微针在经皮给药系统中的研究进展 [J]. 微纳电子技术, 2024, 61(3): 23-39.
Cui W Y, Wang Y, Liu M Q, et al. Research progress of hydrogel microneedles in transdermal drug delivery systems [J]. Micronanoelectr Technol, 2024, 61(3): 23-39.
- [12] 伍新月. 高溶胀率水凝胶微针用于番茄叶片过氧化氢现场快速感知研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2023.
Wu X Y. Study on rapid sensing of hydrogen peroxide in tomato leaves by hydrogel microneedles with high swelling ratio [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2023.
- [13] 杨晓梅, 陈晓兰, 薛雪, 等. 多指标综合评分法优选木芙蓉叶提取工艺 [J]. 贵州科学, 2018, 36(3): 16-20.
Yang X M, Chen X L, Xue X, et al. Optimization of extraction technique of *Hibiscus mutabilis* leaf by multi-index comprehensive weighted score [J]. Guizhou Sci, 2018, 36(3): 16-20.
- [14] 曹坚. 微针传递生物大分子药物治疗类风湿性关节炎的研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2020.
Cao J. Study on the delivery of macromolecular biological drugs for the treatment of rheumatoid arthritis by microneedles [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2020.
- [15] 李娜, 张锋. 丝素蛋白水凝胶在骨组织工程中的研究进展 [J]. 现代化工, 2023, 43(7): 79-83.
Li N, Zhang F. Research progress on application of silk fibroin hydrogel in bone tissue engineering [J]. Mod Chem Ind, 2023, 43(7): 79-83.
- [16] 王舒慧, 杨明, 朱卫丰, 等. 天麻素全载药可溶性微针的制备及体外经皮渗透性研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(11): 1056-1061.
Wang S H, Yang M, Zhu W F, et al. Study on the preparation and transdermal permeability of soluble microneedles loaded with gastrodin *in vitro* [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2022, 38(11): 1056-1061.
- [17] 徐靖. 肉芽肿性小叶性乳腺炎 IgG4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PRLR 的表达研究及其临床治疗初步探讨 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2020.
Xu J. Study on the expression of IgG4, TNF- α , IL-1 β , IL-6 and PRLR in granulomatous lobular mastitis and preliminary discussion on its clinical treatment [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2020.
- [18] 解颖颖. 芹菜素、针刺对 LPS 诱导的 SD 大鼠乳腺炎的抗炎效果及其机制研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.
Xie Y Y. Anti-inflammatory effects and mechanisms of celastrol and acupuncture on LPS-induced mastitis in SD rats [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.
- [19] 郭赢芳. 木犀草素通过阻断 NF- κ B 和 MAPK 活化抑制奶牛乳腺炎的机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
Guo Y F. Study on the mechanism of luteolin inhibiting mastitis in dairy cows by blocking the activation of NF- κ B and MAPK [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022.
- [20] Daseke M J, Tenkorang-Impraim M A A, Ma Y G, et al. Exogenous IL-4 shuts off pro-inflammation in neutrophils while stimulating anti-inflammation in macrophages to induce neutrophil phagocytosis following myocardial infarction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2020, 145: 112-121.

[责任编辑 孙英杰]