

载胰岛素白及多糖可溶性微针柔性贴片的制备和初步评价

韩珍¹, 曾锐^{2*}, 周平¹, 杨玲¹, 任艳², 瞿燕^{1*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

摘要: 目的 首次使用白及多糖和聚乙烯醇制备载胰岛素 (insulin, INS) 的可溶性微针柔性贴片 (INS-DMNs), 并对其理化性质及透皮递送性能进行了初步评价。方法 采用微模塑法制备 INS-DMNs, 以针体硬度、背衬柔韧性及成型性为指标, 考察白及多糖与聚乙烯醇的浓度; 扫描电子显微镜 (SEM) 观察形态特征, 考察载药量、溶解性、皮肤刺激性、机械强度及稳定性, 共聚焦显微镜评估胰岛素的透皮释放和扩散; 采用 Franz 扩散池考察体外透皮性能; 体内药效学评估 INS-DMNs 对糖尿病大鼠的降血糖作用。结果 INS-DMNs 呈金字塔形, 针体均匀且机械强度良好, 能在 2 h 内溶解, 背衬柔韧平整, 每片含药量 (0.25±0.02) IU, 所诱导的皮肤损伤小且可迅速恢复, 稳定性良好, 胰岛素可到达皮肤内部 220 μm 处。体外皮肤渗透结果显示, 12 h 后, INS-DMNs 中胰岛素累积渗透量可达 89.63%, 证明白及多糖可溶性微针柔性贴片可有效改善胰岛素的透皮渗透。体内药效学结果显示, INS-DMNs 表现出明显的降血糖作用, 相对于皮下给药, 微针给药的持续性更好。结论 INS-DMNs 具有足够的机械强度插入皮肤并持续释放药物, 同时灵活的背衬提供了更优的皮肤附着力, 实现了胰岛素的透皮递送。

关键词: 白及多糖; 胰岛素; 微模塑法; 可溶性微针; 柔性贴片; 经皮给药系统; 溶解性; 皮肤刺激性; 机械强度; 降血糖
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)07-1906-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.07.007

Preparation and preliminary evaluation of insulin-loaded *Bletilla striata* polysaccharide dissolving microneedles with flexible patches

HAN Zhen¹, ZENG Rui², ZHOU Ping¹, YANG Ling¹, REN Yan², QU Yan¹

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective The insulin (INS)-loaded dissolving microneedles with flexible patches (INS-DMNs) was prepared by *Bletilla striata* polysaccharide (BSP) and polyvinyl alcohol (PVA) for the first time, the physicochemical properties and transdermal delivery performance of INS-DMNs were preliminarily evaluated. **Methods** INS-DMNs were prepared by micro-molding technique. The concentration of BSP and PVA was investigated with the hardness of needle bodies, flexibility of patches and formability of microneedles as the evaluation index. The morphological characteristics was observed by scanning electron microscopy. Drug loading, solubility, skin irritation, mechanical strength and stability were tested. The transdermal release and diffusion of INS were observed by confocal microscopy. *In vitro* transdermal performance of INS-DMNs was investigated by Franz diffusion cell, and *in vivo* pharmacodynamics were studied to investigate their hypoglycemic effect on diabetic rats. **Results** The prepared INS-DMNs were pyramidal in shape with uniform needle bodies and excellent mechanical strength. Meanwhile, the needle bodies of INS-DMNs could dissolve in 2 h, and the patches were flexible and flat. The dosage of INS was (0.25 ± 0.02) IU per patch, and the skin damage induced by INS-DMNs was slight and recovered quickly. The stability was excellent and INS could reach 220 μm inside the skin. Moreover, *in vitro* skin penetration results showed that the cumulative penetration of INS in INS-DMNS reached

收稿日期: 2020-12-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603309); 国家重点研发计划 (2017YFC1700705); 四川省留学人员科技活动项目择优资助经费计划 (2018-68); 四川省重点研发计划 (2020YFS0330); 四川省重点研发计划 (2019YFS0174)

作者简介: 韩珍 (1995—), 硕士研究生, 主要从事药物新制剂、新剂型、新技术研究。Tel: 18090603233 E-mail: hanzhenyoyo@163.com

*通信作者: 瞿燕, 教授, 主要从事中药制剂炮制研究。Tel: 18081971570 E-mail: quyan028@126.com

曾锐, 教授, 主要从事中药制剂炮制研究。Tel: 18081975370 E-mail: rzeng@swun.edu.cn

89.63% after 12 h, which proved that the *Bletilla striata* polysaccharide dissolving microneedles with flexible patches could effectively improve the transdermal penetration of INS. The results of *in vivo* pharmacodynamics showed that INS-DMNs exhibited a significant hypoglycemic effect, and compared with subcutaneous administration, microneedle administration was more sustainable. **Conclusion** INS-DMNs realized the transdermal delivery of INS, where the needle bodies were mechanically robust enough to insert into the skin and continuously release drugs, while the flexible patches provided better skin adhesion.

Key words: *Bletilla striata* polysaccharide; insulin; micro-molding; dissolving microneedle; flexible patches; transdermal drug delivery system; dissolving properties; skin irritation; mechanical strength; hypoglycemic effect

多肽类大分子药物胰岛素 (insulin, INS), 常通过 sc 给药, 生物半衰期短, 需低温冷链运输和贮存, 严重影响了患者用药的依从性与便捷性。尽管如此, 由于缺乏替代的药物及给药方式, sc 胰岛素仍然是治疗 1 型和 2 型中晚期糖尿病的首选治疗途径^[1-4]。胰岛素透皮递送是一种有潜力的给药方式, 相对于 sc, 透皮递送可极大改善患者的依从性。然而, 皮肤角质层屏障使大分子药物难以透皮吸收。随着微制造技术的进步, 微针这种可打破角质层障碍、可自我服务、无痛、缓释的透皮给药方式受到了研究者的关注^[5-6]。其中, 可溶性微针 (flexible patches, DMNs) 介导的多肽类大分子药物透皮递送技术, 以其低成本、单剂量、易于给药、可避免肝脏首过效应、改善热稳定性、简化药物运输贮存和医疗废物处理等优势, 有望更好地改善患者的健康和生活质量^[7-9]。

白及多糖 (*Bletilla striata* polysaccharide, BSP) 是从兰科白及属植物白及 *B. striata* (Thund.) Reichb. f. 块茎中提取的一种天然可溶性葡甘露聚糖材料, 广泛用于药物制造黏合剂、成膜材料、凝胶和伤口敷料等^[10-12]。目前, 已证明白及多糖具有促进伤口愈合和止血的作用, 还具有抗炎、抗氧化和抗菌活性^[13-15]。因此, 白及多糖可能有助于恢复因微针插入引起的微创伤, 如防止细菌感染和减轻炎症。本课题组的前期研究工作已制备了以白及多糖为基质的 DMNs, 其易于制造, 针体具有良好的机械强度, 皮肤刺入性能较好。然而白及多糖作为微针背衬材料, 缺乏理想的柔韧性, 容易断裂且与皮肤贴合度欠佳^[16-17]。由于皮肤的弹性, 微针尖端需要足够的机械强度才能穿透角质层, 背衬则需要足够的柔韧性与皮肤紧密贴合, 以利于药物的成功递送^[18-19]。在本研究中, 拟采用微模塑法制备包载胰岛素的白及多糖可溶性微针柔性贴片 (INS-DMNs), 以白及多糖为针体材料, 聚乙烯醇为背衬材料, 通过工艺优化, 制备具有良好柔韧性背衬与刺入性能的可溶

性微针, 并考察其理化性能和初步药效学, 为白及多糖制备的 DMNs 应用奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

A 25 PDMS 微针模具, 台州微芯医药科技有限公司; DZF-6050 真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; SU9010 扫描电子显微镜 (SEM), 日本日立有限公司; CX21 光学显微镜, 日本奥林匹斯有限公司; VapoMeter 经表皮水分测量仪, 芬兰 Delfin 科技有限公司; TMS-Pro 纹理分析仪, 美国 FTC 有限公司; Brighttime Chirscan 圆二色谱仪, 英国 Applied Photophysics 有限公司; TCS SP8 共聚焦显微镜, 德国莱卡公司; RYJ-6B Franz 扩散池, 上海黄药药检有限公司; 血糖测量仪, 三诺生物传感股份有限公司; TDL-5A 离心机, 中国新宝仪器有限公司; P10 智能手机, 中国华为有限公司。

1.2 药品与试剂

白及药材于 2019 年购自四川省中药饮片有限责任公司, 经西南民族大学刘圆教授鉴定为白及 *B. striata* (Thund.) Reichb. f. 的干燥块茎。

胰岛素, 纯度 ≥ 27 USP units/mg, 上海麦克林生物科技有限公司, 批号 C10432222; 链脲佐霉素 (批号 K1922114)、FITC (质量分数 $> 90\%$, 批号 H1816018), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 聚乙烯醇, 批号 2016091901, 美国 Sigma-Aldrich 公司; 猪胰岛素 ELISA 检测试剂盒, 江苏科晶生物科技有限公司, 批号 202009; 磷酸盐缓冲液 (PBS), pH 7.4, 中国赛默飞世尔科技有限公司; 实验用水为去离子水, 其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

雌性 SD 大鼠, SPF 级, 质量 (180 ± 20) g, 由成都达硕实验动物有限公司提供, 合格证号 SCXK (川) 2019-030。所有动物实验遵循成都中医药大学动物实验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。

2 方法与结果

2.1 白及多糖的制备

根据本课题组先前报道的制备方法获得白及多糖^[13-14]。将在 70 °C 下烘箱干燥至恒定质量的白及块茎打粉，过 30 目筛。粉末分别用石油醚、乙醇在 70 °C 下连续脱脂脱色。将 40 倍体积的去离子水加入预处理的干燥粉末中，70 °C 下搅拌提取 2 次，每次 2 h，收集清液浓缩至 1/3 体积。浓缩液用 Sevage 试剂处理除去蛋白质。使用乙醇缓慢加入浓缩的脱蛋白质溶液至乙醇体积分数达到 80%，将其在 4 °C 下储藏过夜。最后，沉淀物分别用脱水乙醇、丙酮、乙醚洗涤，干燥后即得粗多糖。

2.2 总多糖含量的测定

采用硫酸-苯酚法对“2.1”项下制备的白及多糖中总多糖含量进行测定。以葡萄糖为对照品并绘制标准曲线计算得白及多糖的总多糖质量分数为 64.3%。

2.3 空白微针的制备

采用微模塑法制备微针，将提前溶胀好的白及多糖溶液浇筑于 PDMS 模具上，以 3000 r/min 离心 30 min，使白及多糖溶液填充模具腔体并形成针体。去除模具表面多余基质后，加入适量聚乙烯醇溶液形成背衬。将模具置于干燥器内 25 °C 干燥 24 h，即得空白微针。

2.4 微针制备工艺的优化

在实际应用中，DMNs 的针体需要有足够的机械强度来刺破皮肤实现药物透皮递送，而背衬则需要一定的柔韧性与皮肤紧密贴合。因此，分别对针体和背衬的浓度进行筛选。配制质量分数分别为 10%、15%、20% 的白及多糖溶液，用于制备微针的针体；配制质量分数分别为 10%、15%、20% 的聚乙烯醇溶液，用于制备微针背衬。根据表 1，使用 9 种处方以“2.3”项下方法分别制备微针，考察其针体硬度、背衬柔韧性、成型性，以筛选最优浓度。

表 1 微针制备材料处方的筛选

Table 1 Microneedle preparation material screening

序号	针头白及多糖/%	背衬聚乙烯醇/%	针体硬度	背衬柔韧性	成型性	综合评价
1	10	10	+	+++	×	×
2	10	15	+	++	×	×
3	10	20	+	+	+	×
4	15	10	++	+++	++	√
5	15	15	++	++	+++	√√
6	15	20	++	+	+	√
7	20	10	+++	+++	×	×
8	20	15	+++	++	×	×
9	20	20	+++	+	×	×

√、√√表示满意程度，×表示不能满足制作要求，+、++、+++表示合格的程度

√、√√ indicate the degree of satisfaction, × indicates not meeting the production requirements, +, ++, +++ indicate the degree of qualification

处方筛选结果见表 1，经考察，确定第 5 组，即针体白及多糖浓度 15%，背衬聚乙烯醇浓度 15% 为制备微针的最佳浓度，制备的白及多糖可溶性微针柔性贴片，针体部分均匀坚硬、背衬柔韧平整。

2.5 INS-DMNs 的制备

根据优选的空白微针制备工艺，制备 INS-DMNs。将 5.4 IU 胰岛素溶于少量 0.1 mol/L 盐酸中，再用去离子水稀释至 4 mL，另取白及多糖 600 mg 加入胰岛素溶液中搅拌混合溶解。然后将混合物倒入 PDMS 模具中，连续离心 30 min 以填充模具腔体并形成针体。去除 PDMS 模具表面的含药基质，将 15% 聚乙烯醇溶液倒入 PDMS 模具中，形

成微针的背衬。将模具置于干燥器内 25 °C 干燥 24 h，小心脱膜即得 INS-DMNs。

2.6 微针的表征

2.6.1 视觉形态评价 取“2.5”项下制备的 INS-DMNs，分别置光学显微镜和 SEM 下进行观察，结果如图 1 所示，INS-DMNs 呈现出“金字塔”的形状，针体均匀且表面平整。微针长度约为 800 μm，基部宽度约为 350 μm。

2.6.2 载药量的测定 使用手术刀小心将 INS-DMNs 针尖卸下，收集针尖，溶于 1 mL PBS 中，提取 12 h 后，以 5000 r/min 离心 3 min。取上清液，稀释后根据 ELISA 试剂盒说明书测定其含药量，所

得每片 INS-DMNs 含药 (0.25±0.02) IU。

2.6.3 溶解性考察 待 SD 大鼠麻醉后, 使用动物剃毛器剔除大鼠腹部大部分鼠毛, 并用剃刀小心除去短毛。将 INS-DMNs 阵列插入大鼠的腹部皮肤中, 并以标准化的时间间隔 (0、5、30、60、120 min) 将微针从皮肤中取出, 使用光学显微镜分析微针长度变化。结果如图 2 所示, INS-DMNs 随着时间的推移逐渐溶解, 且 2 h 后针头几乎完全溶解。

2.6.4 皮肤刺激性测试 在开始试验之前 24 h, 将大鼠的两侧腹部脱毛。在大鼠腹部施用 INS-DMNs 后, 连续检测经皮水分丢失 (transepidermal water loss, TEWL) 的读数值, 直至恢复至基线值, 并使用智能手机拍照监测皮肤恢复状态。将未施用微针的部位作为对照, 运用 SPSS 23.0 分析软件对数据进行分析。结果如图 3 所示, INS-DMNs 的插入显著增加 TEWL 值, 证明 INS-DMNs 破坏了皮肤角质

层屏障的完整性。但是, 该值在 7 h 内逐渐恢复到基线值, 表明 INS-DMNs 的施用所诱导的皮肤损伤很小且可迅速恢复。

2.6.5 机械强度测试 将空白微针和 INS-DMNs 针体朝上, 置于金属铝板上, 金属探头朝下运行, 当

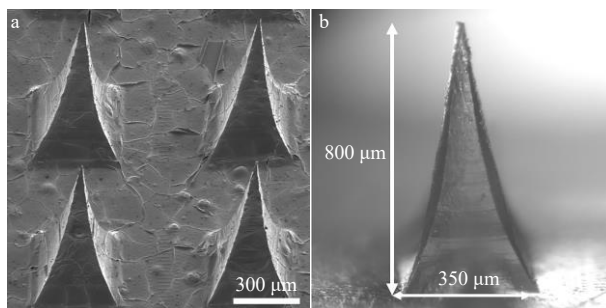


图 1 INS-DMNs 的 SEM 图片 (a) 和光学显微镜照片 (b)
Fig. 1 SEM (a) and optical microscope (b) images of INS-DMNs

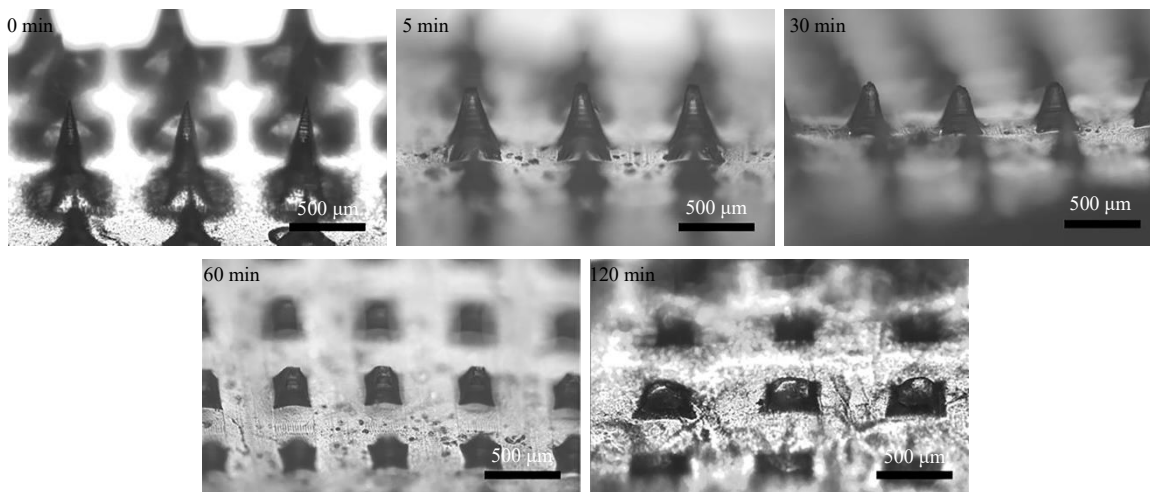
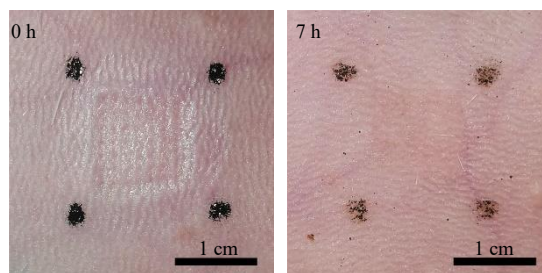
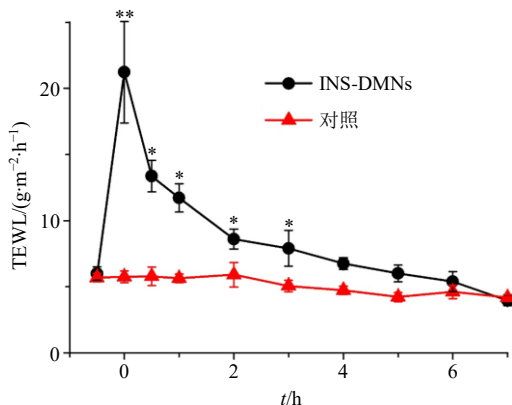


图 2 INS-DMNs 在指定时间点应用于大鼠皮肤后的体内溶解性

Fig. 2 Dissolution of INS-DMNs after their application onto rat skin *in vivo* at indicated time points



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

图 3 应用 INS-DMNs 后皮肤的 TEWL 值和和皮肤外观监测图

Fig. 3 TEWL from skin after INS-DMNs application and photographs of monitoring skin appearance

探头接触到针尖后(触发力为 0.08 N),继续以 30 mm/min 的速度向下继续运行,直至针体发生 60% (即 480 μm) 的形变,记录此时的临界力,探头抬起。所得空白微针和 INS-DMNs 的临界力分别为 (0.42 ± 0.02) N/针和 (0.40 ± 0.01) N/针,运用 SPSS 23.0 分析软件对其进行分析,结果显示两者无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.6.6 稳定性试验 通过圆二色谱(CD)检测在不同条件下(4、20、25 $^{\circ}\text{C}$)贮存 28 d 后的 INS-DMNs 样品,以评估胰岛素装载于白及多糖可溶性微针柔性贴片前后的二级结构变化及其稳定性。

胰岛素的检测:称取未经处理的胰岛素,使用 PBS 将其配制为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,即得胰岛素样品溶液。以 PBS 溶液为空白,对纯胰岛素样品进行 CD 检测。

INS-DMNs 的检测:将 INS-DMNs 浸入 PBS 中,使用磁力搅拌器连续搅拌 24 h (300 r/min),充分溶解后将溶液离心 5 min (5000 r/min),收集上清液,即得包载于微针的胰岛素样品溶液。另取一片空白微针,使用上述同样的操作进行处理,作为空白溶液对包载于微针的胰岛素样品进行 CD 检测。

结果如图 4 所示,CD 光谱均在 208 nm 和 223 nm 处有 2 个峰,分别对应与胰岛素的 α -螺旋和 β 结构^[20]。表明 INS-DMNs 在不同条件下贮存 28 d 后,胰岛素的二级结构未发生变化。

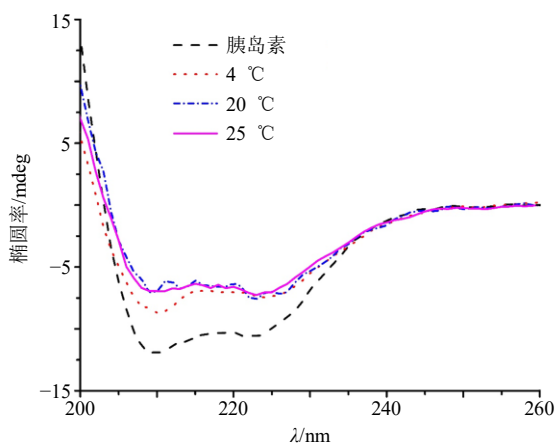


图 4 封装于白及多糖可溶性微针柔性贴片后胰岛素的稳定性考察

Fig. 4 Stability of INS after encapsulated in microneedles

2.6.7 共聚焦激光显微镜测试 为了将胰岛素可视化,根据文献报道的方法^[21],将胰岛素用 FITC 标记,并根据“2.5”项方法制备载有 INS-FITC 的 DMNs。

实验前一天在麻醉下小心为 SD 大鼠腹部脱

毛。将负载 INS-FITC 的 DMNs 刺入大鼠腹部皮肤,并用手术胶带固定 2 h。去除微针后,用手术刀取下皮肤,小心刮除皮下脂肪和结缔组织。将采集的皮肤样品置于载玻片上,使用共聚焦激光扫描显微镜观察 INS-FITC 在皮肤中的垂直分布。图 5 显示了不同层面皮肤的共聚焦图像,可发现绿色荧光在皮肤内部达到了 220 μm ,以及重建的 3D 荧光图像,显示了从角质层到表皮呈倒三角形。

2.7 体外皮肤透皮试验

待 SD 大鼠麻醉后,使用动物剃毛器剔除大鼠腹部大部分鼠毛,并用剃刀小心除去短毛。处死大鼠后,取下已脱毛区域的皮肤,去除脂肪和结缔组织,储藏于 -80°C 冰箱。使用前,将皮肤从冰箱中取出并用生理盐水浸泡 1 h。

将 INS-DMNs 固定在医用胶带上,使用自制施用器插入皮肤中。取下施用器,将 INS-DMNs 和皮肤一起安装在 Franz 扩散池的供给池和接收室之间,真皮侧面朝充满脱气 PBS 的接收室。同时,另设一组给予胰岛素溶液。扩散池保持在 37 $^{\circ}\text{C}$,并以 300 r/min 转速连续搅拌。按预定时间间隔在接收室中采样 200 μL 溶液,并将相同体积的脱气 PBS 加入接收室中。

使用 ELISA 试剂盒测试胰岛素的累积渗透量,绘制药物累计渗透曲线,并运用 SPSS 23.0 分析软件对数据进行分析。结果如图 6 所示,施用 INS-DMNs 20 min 后,在 Franz 接收室中检测到胰岛素,并在 2 h 内表现出爆炸性释放。此后,随着时间流逝,胰岛素释放逐渐缓慢。12 h 后,INS-DMNs 中胰岛素的累积渗透率为 $(89.63 \pm 6.00)\%$,而胰岛素溶液组的累积渗透率为 $(2.77 \pm 1.34)\%$,故认为白及多糖可溶性微针柔性贴片可有效改善胰岛素的透皮渗透性。

2.8 体内药效学考察

2.8.1 糖尿病大鼠模型的制备 称取链脲佐霉素,加入枸橼酸缓冲液将其配制为 30 mg/mL 的溶液。取体质量为 (200 ± 20) g 的雌性 SD 大鼠,ip 链脲佐霉素 (65 mg/kg)。3 d 后,选择血糖稳定并达建模标准的大鼠,进行下一步实验^[22]。

2.8.2 实验操作及结果 实验前将大鼠腹部脱毛并禁食 12 h。将糖尿病大鼠分为 4 组:(1)对照组:不经过任何处理;(2)空白微针组:将空白微针贴于大鼠腹部;(3)sc 组:sc 胰岛素溶液 (0.25 IU);(4)INS-DMNs 组:大鼠腹部施用 INS-DMNs

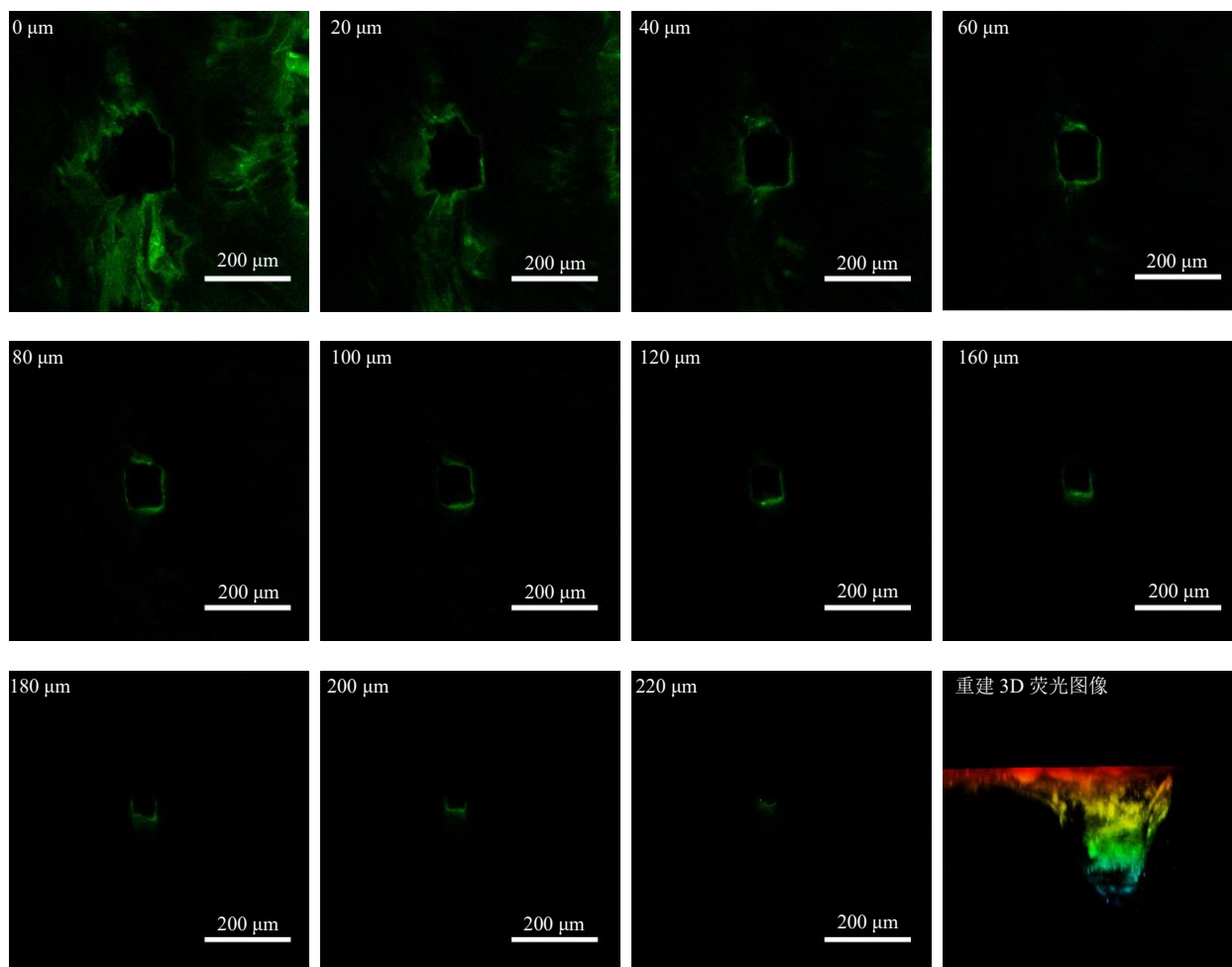


图5 在体内插入 2 h 后不同深度皮肤样本光学切片的共焦显微照片和微通道的重建 3D 荧光图像

Fig. 5 Confocal micrographs of optical sections of skin sample at different depths after 2 h of insertion *in vivo* and 3D representation of microchannel

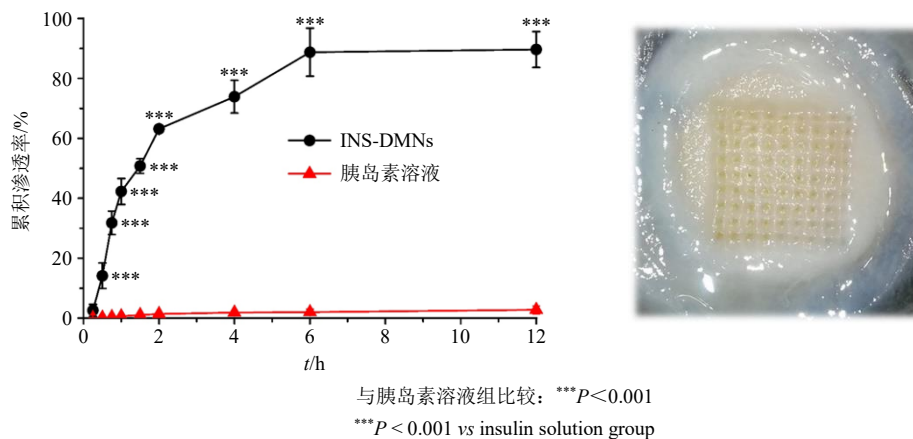


图6 INS-DMNs 透皮累积渗透曲线和微针施用于大鼠离体皮肤后效果图 ($n = 6$)

Fig. 6 Cumulative percutaneous penetration curve of INS-DMNs and effect of insulin solution group after microneedles applied to rat skin *in vitro* ($n = 6$)

(0.25 IU)。给药前和给药后 8 h 内从尾静脉采集血样，并用血糖仪测量血糖水平，并运用 SPSS 23.0 分析软件对数据进行分析。结果如图 7 所示，sc 给

药和 INS-DMNs 给药均能有效降低血糖浓度 ($P < 0.05$)。sc 给药使大鼠血糖在第 2 h 达到最低水平 (41.4%)，6 h 后恢复至初始水平。通过 INS-DMNs

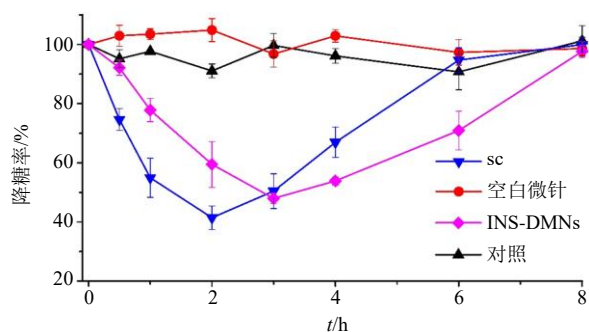


图 7 血糖水平随时间变化 (n = 5)

Fig. 7 Blood glucose levels over time (n = 5)

给药,大鼠血糖在第3 h内达到最低水平(48.0%),并在8 h后恢复到初始水平。

3 讨论

在本研究中,通过微模塑法,成功制备了由胰岛素药物、白及多糖针体和聚乙烯醇背衬组成的INS-DMNs,并优化了制备工艺。制备的微针呈金字塔形,安全性良好,针体显示出良好的机械强度,可在2 h内缓慢溶解,背衬柔韧平整。研究表明,由于皮肤的弹性,微针针体需要足够的机械强度才能穿透角质层,而背衬需要合适的柔韧性使其灵活贴合到皮肤上并将力传递到针体^[18]。因此,本研究以聚乙烯醇作为背衬,其良好的柔韧性可使微针与皮肤紧密贴合,有助于INS-DMNs更好发挥疗效,达到了给药剂型设计的目的。

胰岛素包载于白及多糖可溶性微针柔性贴片中,在25℃下也显示出良好的稳定性,有助于胰岛素避免依赖昂贵的冷链运输系统。白及可溶性微针贴片可释放胰岛素达皮肤内层220 μm处,药物可通过经皮途径进入真皮,并通过微循环进入全身。体外皮肤透皮试验表明,白及多糖可溶性微针柔性贴片可改善胰岛素的透皮递送。体内药效学结果显示INS-DMNs处理和sc胰岛素均可有效降血糖,sc起效快,而微针给药持续性更好,这可能有助于减少胰岛素的给药次数,缓解由胰岛素快速释放导致的皮肤损伤。这项工作证实了白及多糖可溶性微针柔性贴片的胰岛素透皮递送在糖尿病治疗中显示出广阔的应用前景。INS-DMNs给药后,作为微针主要成分的白及多糖是否同时起到促进给药部位皮肤的伤口愈合和炎症消除,即“药辅合一”作用,本课题组将在后期做进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Saitiel A R, Kahn C R. Insulin signalling and the regulation

of glucose and lipid metabolism [J]. *Nature*, 2001, 414(6865): 799-806.

[2] Koster J C, Permutt M A, Nichols C G. Diabetes and insulin secretion: The ATP-sensitive K⁺ channel (KATP) connection [J]. *Diabetes*, 2005, 54(11): 3065-3072.

[3] 王思玲, 苏德森, 顾学裘. 口服胰岛素制剂的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(2): 143-146.

[4] 黄健, 高春生, 梅兴国. 多肽和蛋白类药物口服给药的可行性探讨 [J]. 国际药学研究杂志, 2007, 34(4): 298-300.

[5] Li W, Terry R N, Tang J, et al. Rapidly separable microneedle patch for the sustained release of a contraceptive [J]. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3(3): 220-229.

[6] 张梦婕, 高文彦, 张琪, 等. 微针经皮递送胰岛素的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(19): 1573-1577.

[7] Planz V, Lehr C M, Windbergs M. *In vitro* models for evaluating safety and efficacy of novel technologies for skin drug delivery [J]. *J Control Release*, 2016, 242: 89-104.

[8] Arya J, Prausnitz M R. Microneedle patches for vaccination in developing countries [J]. *J Control Release*, 2016, 240: 135-141.

[9] Ye Y Q, Yu J C, Wen D, et al. Polymeric microneedles for transdermal protein delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 127: 106-118.

[10] Yang L, Han Z, Chen C H, et al. Novel probiotic-bound oxidized *Bletilla striata* polysaccharide-chitosan composite hydrogel [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 117: 111265.

[11] Zhang Q, Qi C, Wang H, et al. Biocompatible and degradable *Bletilla striata* polysaccharide hemostasis sponges constructed from natural medicinal herb *Bletilla striata* [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 226: 115304.

[12] 瞿燕, 张晨, 廖祯诚, 等. 白及多糖应用于医用生物材料的探讨 [J]. 中药与临床, 2017, 8(5): 54-58.

[13] Liao Z, Zeng R, Hu L, et al. Polysaccharides from tubers of *Bletilla striata*: Physicochemical characterization, formulation of buccoadhesive wafers and preliminary study on treating oral ulcer [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 122: 1035-1045.

[14] Qu Y, Li C, Zhang C, et al. Optimization of infrared-assisted extraction of *Bletilla striata* polysaccharides based on response surface methodology and their antioxidant activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 148: 345-353.

[15] 李春雪, 曾锐, 钱妍, 等. 多孔性白及胶的制备及辅料特性初步研究 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4245-4252.

[16] Hu L, Liao Z, Hu Q, et al. Novel *Bletilla striata*

- polysaccharide microneedles: Fabrication, characterization, and *in vitro* transcutaneous drug delivery [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 117: 928-936.
- [17] 曾锐, 瞿燕, 胡铃莉. 一种新型微针及其制备方法: CN109420250A [P]. 2019-03-05.
- [18] Lau S, Fei J, Liu H R, *et al.* Multilayered pyramidal dissolving microneedle patches with flexible pedestals for improving effective drug delivery [J]. *J Control Release*, 2017, 265: 113-119.
- [19] Chen M C, Ling M H, Kusuma S J. Poly- γ -glutamic acid microneedles with a supporting structure design as a potential tool for transdermal delivery of insulin [J]. *Acta Biomater*, 2015, 24: 106-116.
- [20] Fonseca D F S, Costa P C, Almeida I F, *et al.* Pullulan microneedle patches for the efficient transdermal administration of insulin envisioning diabetes treatment [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 241: 116314.
- [21] 李铮, 褚丽芸, 郑爱萍. FITC 标记胰岛素的合成、纯化及表征 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(16): 8-10.
- [22] Zhu M M, Liu Y, Jiang F J, *et al.* Combined silk fibroin microneedles for insulin delivery [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(6): 3422-3429.

[责任编辑 郑礼胜]