

微针阵列用于生物大分子药物的递送*

黄颖聪 马凤森** 占浩慧 章捷

(浙江工业大学药学院, 生物制剂与材料实验室, 杭州 310014)

摘要 生物大分子药物难以跨过皮肤的角质层屏障, 而微针作为一种微创、无痛、高效的经皮给药方式, 能有效破解大分子药物透皮速率和吸收量低下的难题. 本文详细综述了微针阵列技术在各类生物大分子药物经皮递送中的应用进展, 包括单独微针阵列(固体实心微针、空心微针、涂层微针和可溶性微针)以及微针与其他制剂技术(如微粒给药系统)、医疗器械和智能释药系统等结合对大分子药物的促渗作用和控释作用. 同时对微针用于大分子药物递送领域目前面临的问题、发展前景等作出分析.

关键词 生物大分子药物, 微针阵列, 经皮给药, 应用

学科分类号 R94, R318.08

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0177

生物大分子药物包括蛋白质、多糖、核酸等, 多用于治疗肿瘤、心脑血管等重大疾病, 是 21 世纪药物研发中最热门和最具前景的领域之一. 然而生物大分子药物的体内递送仍然面临着许多阻碍和难题. 目前最常用的给药方式为静脉或肌肉注射, 频繁的注射给药会给患者带来不适、疼痛与恐惧感, 导致患者依从性较差; 生物大分子的体内外稳定性一般较差, 口服给药时会因胃肠道环境而失活, 或被消化道中的酶水解失活. 经皮给药系统(transdermal drug delivery system, TDDS)具有无创无痛、使用方便、避免肝首过效应、减少胃肠道刺激、能提供灵活的给药面积、缓释控释维持血药浓度稳定等优点^[1-2], 受到广泛关注. 药物经皮给药系统递送的最大障碍是皮肤角质层, 药物多数只能通过角质细胞间隙进入体内, 且亲脂性药物比亲水性药物更易透皮吸收. 生物大分子药物的分子质量通常近万到数万, 远高于经皮给药系统要求的药物分子质量几百以下, 且多数具有良好的水溶性, 经皮给药时常难以跨过皮肤屏障, 生物利用度低, 无法达到药效剂量. 为实现生物大分子药物的非注射有效递送, 大量研究者对微粒给药系统等药物新技术和新剂型进行了研究, 以延长大分子药物的半衰期、提高靶向性、提高递送效率、起到缓控释效

果. 然而这些制剂仍然存在稳定性不好、无法有效维持生物活性等问题^[3-5]. 目前微针技术作为一种无痛、高效、便利的体外透皮给药方法, 可以有效解决大分子化合物和亲水性化合物经皮递送的难题^[6]. 不同类型的微针对疫苗(抗原)、蛋白质类(抗体、细胞因子、酶、激素、多肽等)、多糖类和核酸等生物大分子药物的经皮递送都取得了较好的成果, 显示了微针透皮给药系统在生物大分子药物递送方面的优势和光明的发展前景.

1 微针给药系统简介

微针阵列(microneedle array)是一种高效的新型经皮给药技术(图 1), 具有多个微型针状结构, 其针的长度一般为几十微米到几毫米. 这些微型针头具有足够的长度和机械强度, 能使其刺破皮肤角质层, 打破了角质层屏障对药物的阻滞作用, 大大提高了药物的递送效率, 使大分子和亲水性药物的经皮递送成为可能. 刘姝等^[7]制备了胰岛素透明质酸微针, 并以人离体皮肤为模型考察了微针的体外透

* 浙江省重点科技创新团队项目(2013TD15)资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0571-88871500, E-mail: merriegen@126.com

收稿日期: 2017-05-09, 接受日期: 2017-08-14

皮性能,发现与同剂量溶液相比,微针对胰岛素的体外经皮吸收有显著的促进作用.同时微针结构具有微小的特点,其在应用过程中可以穿刺角质层却不会触碰到真皮内的神经组织,实现了无痛微创给

药,提高患者的依从性^[8].并且微针穿刺形成的通路被认为是暂时性的,在移除微针或者微针溶解后一定时间内,皮肤的通路闭合,屏障功能恢复,不至于引起皮肤感染^[9].

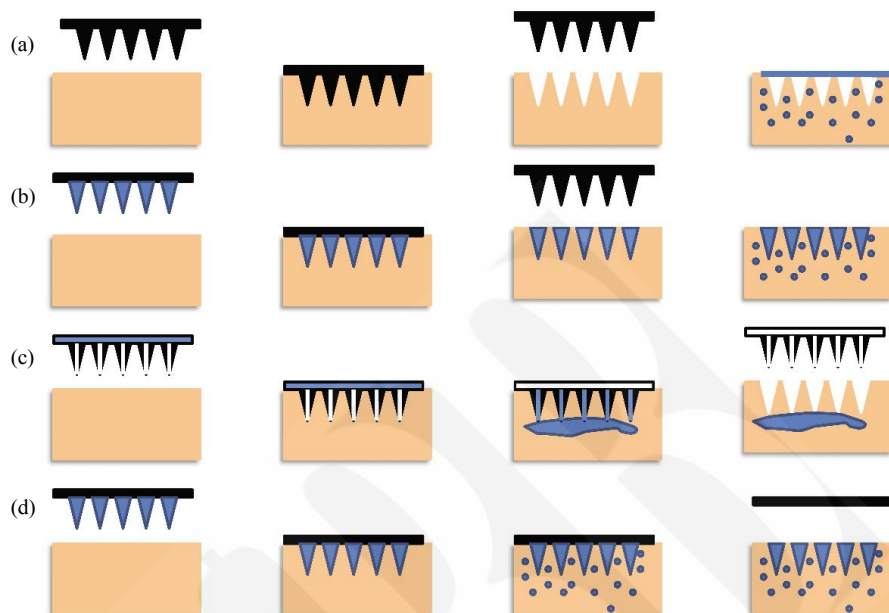


Fig. 1 The schematic of different types of microneedle mediate drug delivery

图 1 不同类型微针介导的药物递送示意图

(a) 固体实心微针. (b) 涂层微针. (c) 空心微针. (d) 可溶性微针.

2 微针在生物大分子药物递送中的应用

2.1 蛋白质与多肽类

2.1.1 抗原

皮肤作为体表屏障具有高度免疫活性,与肌肉相比具有更多的抗原呈递细胞(APC)^[10],可以产生很强的免疫效应^[11].微针给药系统可以无痛微创地将抗原递送到皮肤的特定深度,最大化地让抗原与APC接触,从而引起机体的免疫反应.

许多研究者将卵清蛋白作为疫苗的模式抗原,初步研究微针用于疫苗递送的可行性. Matsuo等^[12]制备了一系列含卵清蛋白的透明质酸可溶性微针,实验表明该微针可以有效地递送可溶性抗原或者微粒型抗原,与传统皮下接种方式相比,微针接种可以在大鼠身上诱导更有效的免疫反应.

疫苗递送是微针研究的热门方向之一.世界范围内的研究者研制了多种疫苗微针,如流感疫苗、脊髓灰质炎疫苗、破伤风疫苗等,并且对这些疫苗微针的效果进行了验证. Sullivan等^[13]采用PVP作为基质材料制备了针尖端载有流感疫苗的双层可溶

性微针贴片,该贴片能在刺入皮肤后的几分钟内溶解.微针疫苗用于小鼠时,能产生大量的抗体和细胞免疫应答,保护机体不受流感的侵害,与常规肌肉注射相比,微针疫苗能更有效地清除肺部的病毒,并可以增强机体的记忆免疫应答.

微针给药系统用于疫苗存在以下几个优势:
a. 可靠地引起机体的免疫应答,甚至达到比注射更好的效果;
b. 解决疫苗的传统给药方式注射带来的疼痛,增加患者依从性,尤其是儿童;
c. 患者可以进行自主给药,不需要专业人员进行给药,便于大规模接种;
d. 增加疫苗制剂的稳定性,减少传统疫苗在保存运输方面的支出,降低成本.因此微针给药系统用于抗原的递送具有巨大前景.

2.1.2 抗体

抗体药物具有特异性高、靶向性明显等优点,主要用于肿瘤、免疫性疾病、抑制排斥反应、感染性疾病等的治疗,尤其是肿瘤的治疗.而多数抗体药物是大分子糖蛋白,分子质量大,结构复杂,常常采用注射给药,而微针作为注射给药的替代性选择剂型,其前景备受关注.

Li 等^[14]将人类免疫球蛋白 IgG 作为单抗模型, 首次研究了可溶性微针促进治疗性抗体药物经皮吸收的可行性. 使用麦芽糖微针对无毛大鼠皮肤作预处理, 其产生的微孔道在液体存在的情况下能持续 24 h 以上不闭合, IgG 能经由微孔道穿过皮肤. Korkmaz 等^[15]制备了尖端载有抗 TNF- α 抗体的 CMC 可溶性微针. 该微针能在 30 min 内溶解并有效地递送抗 TNF- α 抗体(约 75%)至表皮层. 用于小鼠牛皮癣样皮肤时, 能减少病变部位的关键炎症生物标记物、表皮厚度和 IL-1 β 的表达.

另外, 还有研究者将微针与其他制剂技术结合, 达到智能给药、缓控释给药等效果. Wang

等^[16]制备了一种生物可降解的微针, 其包载了含抗 PD-1 抗体和葡萄糖氧化酶(GOx)的右旋糖苷纳米粒, 用于治疗皮肤黑色素瘤. 该纳米粒具有 pH 敏感性, 当 GOx 将葡萄糖氧化为葡萄糖酸时, 酸性环境会促进纳米粒的解体, 使抗 PD-1 抗体持续稳定地释放(图 2). 实验表明该微针具有良好的机械性能, 且能在 5 天内持续释放抗 PD-1 抗体. 该研究还比较了微针贴片、静脉注射以及纳米颗粒肿瘤处局部注射的药效差异. 结果 40 天后, 经微针贴片处理的 50% 小鼠存活下来, 且没有检测到残余的黑色素瘤, 而其他组的小鼠仅仅延长了存活时间, 其存活率为零.

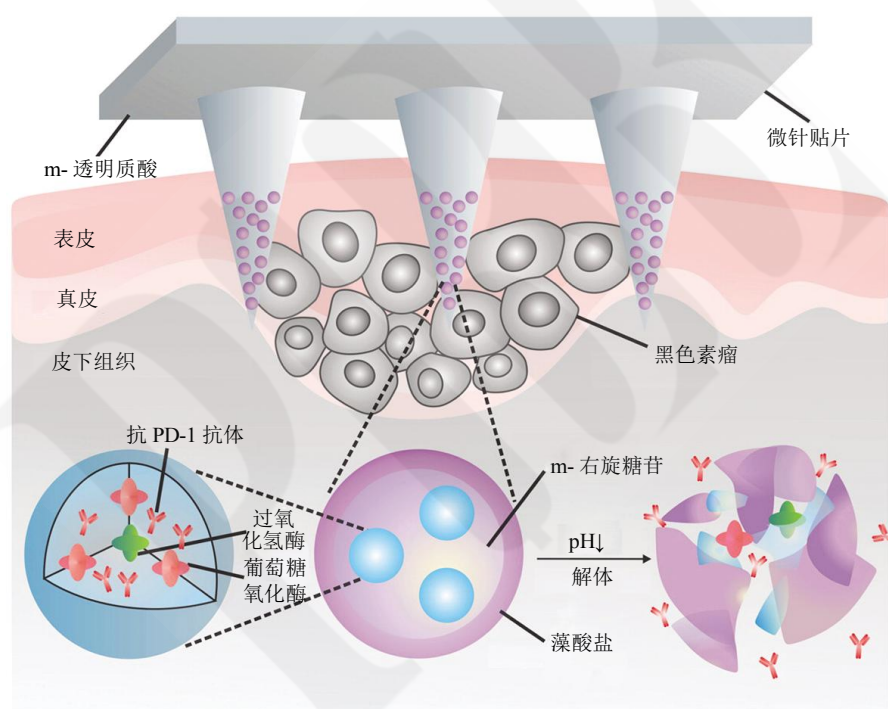


Fig. 2 The schematic of the soluble microneedle loaded with anti-PD-1 antibody

图 2 载有抗 PD-1 抗体的可降解微针结构示意图

目前, 微针用于抗体给药的研究并不十分热门, 但从现有的文献可以看出: 抗体微针能有效地递送药物至皮内, 并能产生良好的疗效, 其疗效相似甚至优于注射给药, 同时能解决注射给药顺应性等问题. 另外, 微针与其他制剂技术的结合, 能使微针具有其他给药方式无法达到的效果.

2.1.3 激素

虽然激素在人体内的含量极少, 但缺少会引发各种疾病, 需要给予外源性激素加以治疗. 部分激素为大分子药物, 如胰岛素、生长激素等, 这些大分子激素的传统给药方式为注射, 因此采用微针给

药是目前研究的热点之一.

胰岛素仍然是目前最有效的降低血糖的药物^[17]. 然而自主皮下注射给药的顺应性不好, 经鼻、胃肠道给药等存在许多缺陷, 如生物利用度低等问题. 胰岛素可溶性微针贴片是一种有效、无痛、可自主给药的良好替代方法. Lee 等^[18]用两种不同分子质量的 PVP 制备了尖端载药的胰岛素可溶性微针, 该微针能刺入皮肤, 深度大于 300 μm , 且在 10 s 内溶解. 实验表明该微针用于糖尿病大鼠时, 能快速、有效地降低血糖含量, 且比皮下注射给药拥有更长的维持时间. Yu 等^[19]采用明胶和硫酸钙制备

了大高宽比的胰岛素微针, 其具有优异的机械性能. 微观横截面图像显示在微针内部具有丰富的孔洞和通道, 为不同特性的药物释放模式提供了潜在可能.

微针阵列可与 PZT 泵结合用于递送胰岛素. 采用 MEMS 技术在柔性硅片上制造中空微针阵列

列, 其具有柔性基底, 可以施用在非平面上, 如手指、手臂等曲面上. 目前大多数使用的胰岛素泵是机械泵. PZT 泵可以比机械泵更精确地泵送定量的药物, 尺寸也比机械泵小^[20]. 图 3 为该装置的实物图.

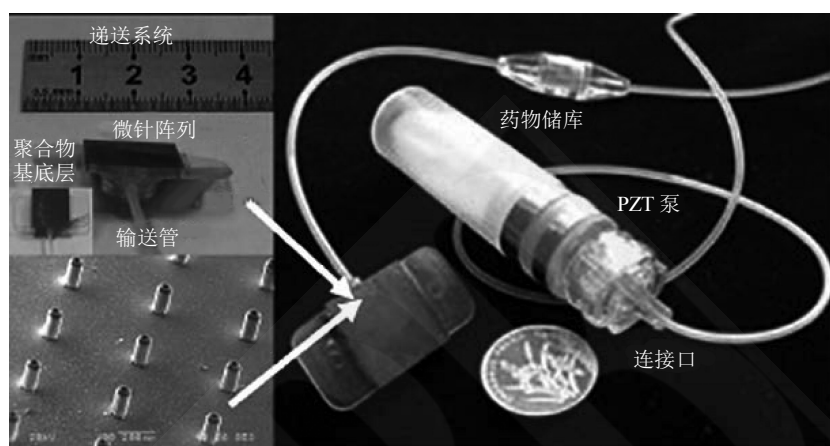


Fig. 3 The combination of microneedles and PZT pump for insulin delivery

图 3 微针阵列与 PZT 泵结合用于递送胰岛素

微针与离子电渗法结合能大大提高药物的递送效率. 包封胰岛素的纳米囊泡, 可以被离子电渗法驱动, 通过微针穿刺皮肤产生的微孔道进入皮内. 研究表明, 结合离子电渗法和微针阵列递送的胰岛素渗透率是被动扩散的 713.3 倍, 该法能使糖尿病小鼠的血糖在 4 h 和 6 h 时分别降至原始水平的 33.3% 和 28.3%, 这与皮下注射的效果相当^[21].

Gu 团队研制出了首个“智能胰岛素微针贴片”^[22]. 该微针贴片包载有葡萄糖响应性囊泡, 该

囊泡由与 2-硝基咪唑(NI)结合的缺氧敏感性透明质酸自组装形成, 其内包载有胰岛素和 GOx. 高血糖状态下 GOx 会催化葡萄糖造成局部缺氧, 而疏水性的 NI 能在缺氧条件下还原成亲水性的 2-氨基咪唑, 使囊泡迅速解离, 促进胰岛素释放(图 4). 该微针贴片用于 I 型糖尿病小鼠后, 血糖水平能在 30 min 内被控制在正常范围, 并维持数个小时, 而胰岛素注射组的血糖水平下降到正常值后很快就回升到高血糖范围.

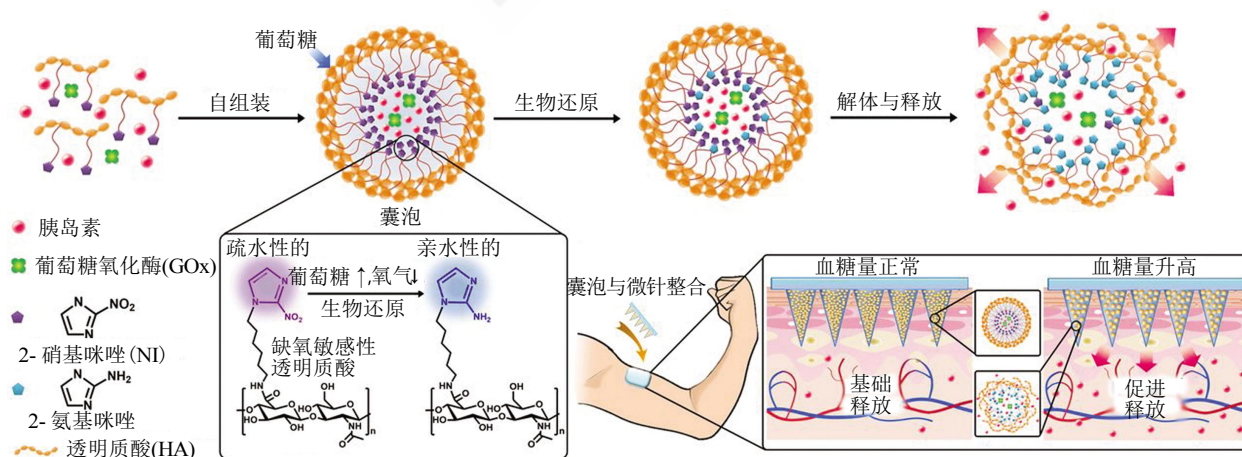


Fig. 4 The schematic of the microneedles loaded with Glucose-responsive vesicles

图 4 载有葡萄糖响应性囊泡的微针的释放原理示意图

基于该催化原理, 会产生较多 H_2O_2 , 而过量 H_2O_2 会在长期使用期间造成自由基诱导的皮肤组织损伤并降低 GOx 的活性, 研究者使用一种新型的囊材来制备囊泡, 将其与微针贴片结合, 组成新型葡萄糖响应型胰岛素递送装置^[21]. 在缺氧且存在 H_2O_2 时, 该聚合物囊泡(d-GRP)可以解离并释放胰岛素. 此外, d-GRP 能够消除过量的 H_2O_2 , 减少

对施用部位的刺激和损伤.

除胰岛素外, 世界范围内还研究了其他种类的激素, 包括生长激素、降钙素、甲状旁腺激素、胰高血糖素、exendin-4、醋酸亮丙瑞林、去氨加压素等. 大量研究表明可溶性微针在大分子激素经皮给药治疗中具有潜在的巨大应用价值(表 1).

Table 1 The researches of hormones delivery based on microneedles (Except for insulin)

表 1 部分采用微针给药的激素研究(胰岛素除外)

激素种类	概况	参考文献
生长激素, 191AA	制备了 rhGH 双层溶解微针, 其生物利用度分别为(72.8±4.2)%~(89.9±10.0)%, 且该微针在-80℃和 4℃下能稳定 1 个月.	[24]
降钙素, 32AA	研发了鲑鱼降钙素的涂层微针, 当其用于无毛鼠时, 与经鼻给药相比, AUC 高 13 倍, 与皮下注射相比, AUC 没有显著性差异, 但 T_{max} 缩短 50%.	[25]
甲状旁腺激素, 84AA	制备了含 PTH(1-34)(34AA)的涂层微针, 其稳定性较好; 使用无毛豚鼠体内评价递送性能, 结果显示保持良好的体内溶出性能.	[26]
胰高血糖素, 29AA	制备了用于严重低血糖治疗的胰高血糖素微针.	[27]
Exendin-4(肠促胰岛素类似物), 39AA	制备了尖端载有 Exendin-4 的可溶性微针阵列, 能在 5 min 内溶解释放. 用于 2 型糖尿病大鼠时, 葡萄糖耐量提高, 胰岛素分泌增强, 其效果与皮下注射相当.	[28]
醋酸亮丙瑞林, 9AA	以硫酸软骨素为基质, 制备含有 LA 的两层溶解性微针, 微针负载(14.3±1.6) μg 的 LA.	[29]
去氨加压素, 9AA	制备了包载去氨加压素的固体涂层微针, 将其用于无毛豚鼠后生物利用度高达 85%, 其消除动力学与静脉内注射相似.	[30]

2.1.4 细胞因子

随着微针技术的发展, 微针给药系统也被用于细胞因子的给药. 目前, 用于微针给药的细胞因子有促红细胞生成素^[31-32]、干扰素^[33-34]、表皮生长因子^[35-36]、成纤维细胞生长因子^[37-38]等.

Ito 等^[31]制备用于促红细胞生成素(EPO)经皮给药的可溶性微针贴片. 该微针贴片采用糊精、硫酸软骨素和白蛋白制备, 具有良好的刺入性能, 能有效递送 EPO. Peters 等^[32]制备 EPO 的涂层微针, 该微针在 25℃下至少 3 个月内保持稳定, 且实验表明该 EPO 微针贴片的药动学曲线与皮下注射给药相似.

干扰素 α -2b(IFN)也被用于微针阵列. 有实验显示 IFN 可溶性微针释放度为 49.2%, 稳定性实验表明制备工艺对 IFN 活性没有影响, 但基质材料对 IFN 活性有影响, 其中硫酸软骨素最好, 可在室温环境中保持 IFN 在 2 个月内稳定^[33]. 药动学实验表明微针组的 AUC 与等剂量肌内注射组相似.

2.1.5 酶

目前, 溶菌酶、天冬酰胺酶、牛胰腺核糖核酸

酶 A 和辣根过氧化物酶等被用于测定微针及其制备工艺的稳定性. 另外还有 GOx、过氧化氢酶和醇氧化酶(AOx)等用于微针中药物释放的触发响应物和生物监测信号的生物转换器.

当微针用于大分子药物给药时, 其稳定性是需要关注的一个问题. 有研究者采用酶作为模型药物, 进行微针的稳定性实验. Lee 等^[39]制备了可溶性微针, 使用溶菌酶作为模型药物, 研究该微针的稳定性, 结果表明该微针室温下储存 2 个月, 封装的溶菌酶仍能保持几乎全部活性(96%活性). Witting 等^[40]以天冬酰胺酶为模型蛋白, 制备了涂层微针, 稳定性实验显示 3 个月后微针中的天冬酰胺酶仍能保持 90%的生物活性, 表明蛋白质在储存期间较为稳定.

微针可以和酶结合, 将酶封装在微针中, 作为触发药物释放的工具^[41-42]. Ye 等^[42]将信号放大器与微针贴片结合, 制备了一种响应型微针贴片. 该微针中含有葡萄糖信号放大器(GSAs). 该创新的 GSA 由封装有 GOx、 α 淀粉酶(AM)和葡糖淀粉酶(GA)的自组装囊泡和 α 直链淀粉组成. GOx 在氧

气存在下葡萄糖转化为葡萄糖酸,使囊泡破裂,释放出其中的AM和GA. AM将 α 直链淀粉水解成二糖和三糖,并通过GA进一步转化为葡萄糖.

“放大”的葡萄糖与外置的 β 细胞接触,促进胰岛素分泌与释放(图5).

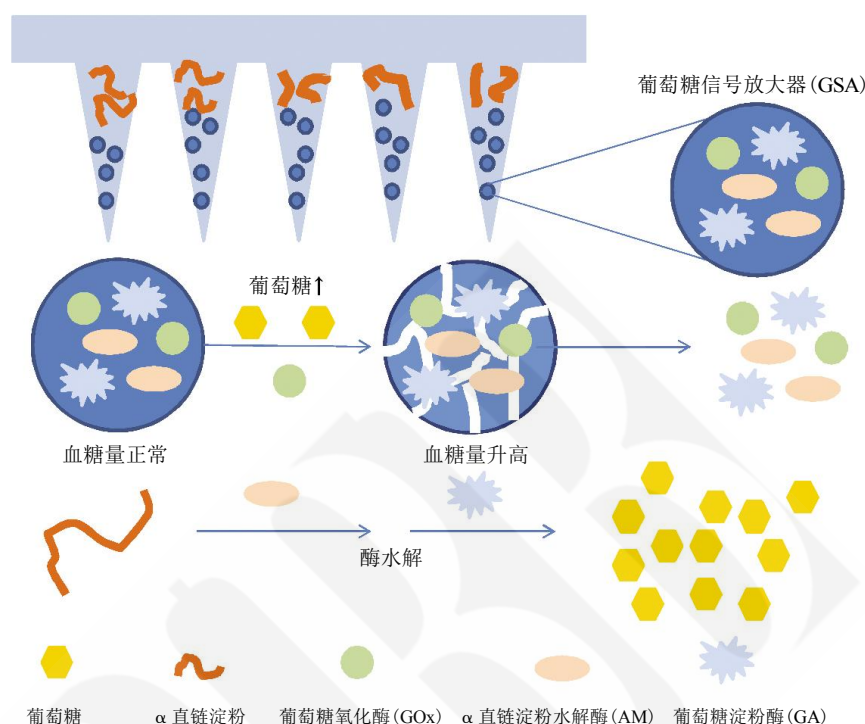


Fig. 5 The schematic of the responsive microneedles combined with GSAs

图5 与信号放大器结合的响应型微针贴片释放示意图

此外,还可以将微针与酶结合为生物传感器,监测机体内某些成分的变化. Windmiller等^[43]将空心微针和实心微针组合成一个电极,并在该电极上固定了谷氨酸氧化酶(GluOx)和GOx,用于兴奋性神经递质谷氨酸和葡萄糖的电化学监测.当微针电极用于体内时,谷氨酸盐会被GluOx催化,此时会引起阳极电流的上升.所得到的基于微针的谷氨酸和葡萄糖生物传感器在缓冲液和未稀释的人血清中表现出高选择性、高灵敏度、快速和高稳定性的特点.于此基础上, Mohan等^[44]研发了一种新型的皮肤微创微针检测装置,该装置由Pt、Ag丝与微针组成,采用邻苯二胺、AOx与Nafion层固定修饰Pt丝微针传感器,用于皮下酒精的电化学监测(图6).

2.2 多糖

肝素是一种黏多糖硫酸脂,平均分子质量为15 ku,主要起抗凝血作用.肝素的传统给药方式为注射给药,且注射部位常常会造成淤血等不良反

应,因此许多研究者^[45-48]研制了肝素微针,用于肝素的经皮给药. Ito等^[46]进行了含有多糖的可溶性微针的研究,选用低分子肝素(LMWH)作为模型多糖,制备可溶性微针.实验显示LMWH能在10 min内从微针中释放,与静脉注射具有相同的效果,且3个月后LMWH的活性仍高于97%,说明微针用于多糖药物具有可行性.然而,由于微针的尺寸较小,给药剂量也较小,这大大限制了微针在多糖类药物中的应用.

此外,有一部分微针的基质材料为功能性多糖,用于人体后能产生生理活性.目前已经有较多产品上市,如日本Spa treatment公司的MICRO PATCH玻尿酸可溶微针眼膜贴片和韩国的Royal skin玻尿酸微针眼贴等,皆是透明质酸的微针制剂.该类微针基质材料与药物为同一种物质,不存在药物对制备工艺、机械性能以及药物载药量等问题的限制,大大加速了微针的工业化与商业化进程.

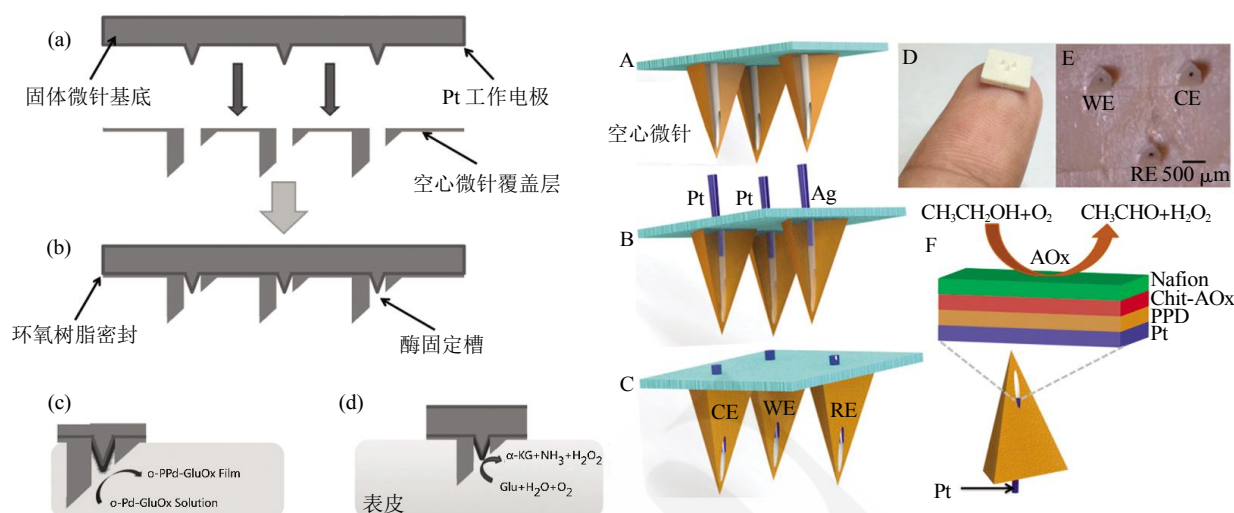


Fig. 6 The schematic of the enzyme biological monitor based on microneedles

图 6 基于微针的酶生物监测器原理示意图

2.3 核酸

基因治疗是指以核酸(RNA 或 DNA)作为药物, 通过将基因转移到患者的细胞中来治疗疾病^[49]. 核酸的经皮递送可用于治疗一系列疾病, 然而其发展受到皮肤强阻隔性质的限制. 一个克服皮肤障碍, 促进核酸经皮递送的方法就是使用微针技术. 目前, 已经有许多关于微针用于核酸递送的研究, 并且这些研究都已经对体内外递送有效性进行了考察.

核酸的递送可以通过固体微针、涂层微针、空心微针和可溶性微针来实现. Deng 等^[50]使用固体硅微针阵列在小鼠耳朵上形成微孔通道递送胆固醇修饰的 siRNA, 结果表明 siRNA 透过皮肤后可以降低 Gapdh 基因的表达, 且不会在主要器官累积, 说明微针阵列可以有效递送 siRNA 到相应部位. Pearton 等^[51]将质粒 DNA 涂层到微针上, 结果显示 pDNA 包被的微针促进了基因在人体皮肤中的表达. Pamornpathomkul 等^[52]研究了不同类型的微针与纳米载体用于促进编码卵清蛋白的质粒 DNA (pOVA)体外皮肤渗透和体内免疫的效果. 研究表明空心微针对 pOVA 的皮肤渗透有优异的增强作用, 当微针与纳米载体结合用于 pOVA 递送时, 其体外渗透和体内免疫应答均要高于 pOVA 的单独微针递送, 且其诱导的免疫应答强于常规皮下注射. Gonzalez-Gonzalez 等^[53]制备了载有 siRNA 的 PVA 可溶性微针, 实验表明在小鼠模型上通过微针介导的 siRNA 能有效沉默基因表达. 递送编码

荧光素酶的质粒 DNA 24 h 后, 在小鼠的耳朵、背部和足底皮肤中均有检测到生物发光现象.

微针阵列与电穿孔技术相结合, 能用于递送核酸. Hooper 等^[54]采用该原理, 设计了一个递送 DNA 疫苗的装置(图 7). 该法比划痕接种表现出更强大的免疫保护能力.

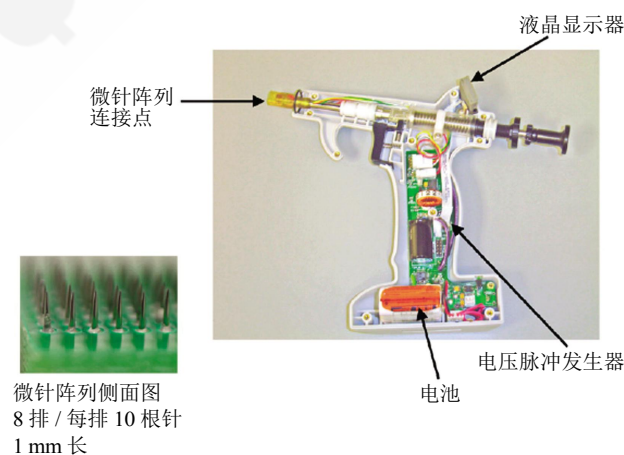


Fig. 7 The schematic of the microneedles combined with electroporation

图 7 微针与电穿孔技术结合的示意图

在此基础上, 许多研究者^[55-57]都进行了微针与电穿孔技术相结合用于递送核酸的研究. Daugimont 等^[55]将空心导电微针用于 DNA 在皮肤内的递送. 该空心微针具有无痛皮内注射和施加电

脉冲的两个功能, 以此来实现皮肤表层的电穿孔. Lee 等^[57]将可溶性微针和电极整合成一个整体(图 8). 可溶性微针刺入皮肤后电极会产生一个电脉冲, 促

进核酸的递送. 利用该原理, 该团队使用复合电极微针进行了 p2CMVmIL-12 的原位皮肤转移, 结果显示在小鼠模型中成功治愈了 B16F10 皮下肿瘤.

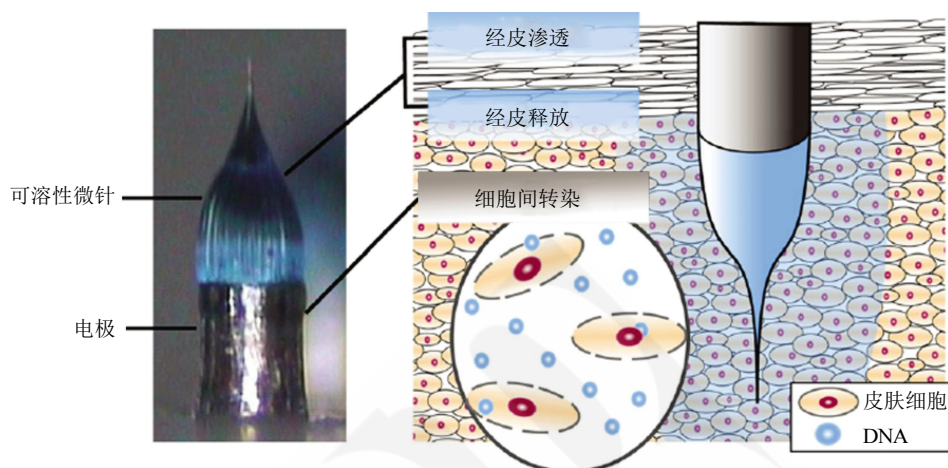


Fig. 8 The schematic of the dissolving microneedles combined with electrode

图 8 复合电极可溶性微针及其释放原理示意图

核酸进入体内后需要克服许多细胞外和细胞内的阻碍才能到达靶向部位^[58], 这是微针递送核酸到体内后无法发挥治疗效果的原因. 这些障碍^[59](图 9) 包括: (a)免疫细胞的检测和清除; (b)内切酶的降

解; (c)脾、肾和肝等的清除; (d)从血管中溢出; (e)靶向组织细胞外液中的迁移; (f)细胞摄取, 包括胞吞和被动扩散; (g)胞吐; (h)内涵体中的酶降解; (i)细胞基质中的酶解; (j)递送到细胞核.

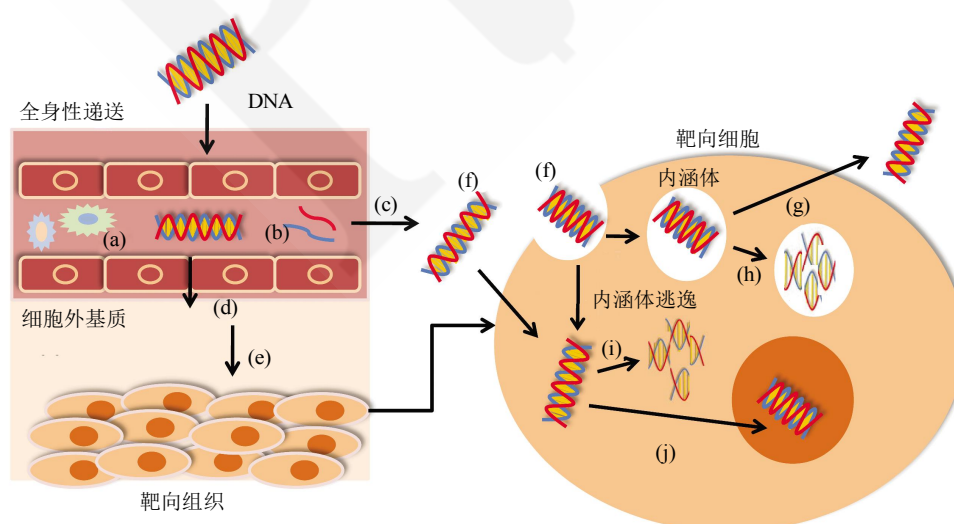


Fig. 9 The barrier of nucleic acid entering human body

图 9 核酸进入体内后面临的屏障

McCaffrey 等^[60]将两种制剂技术结合用于 DNA 的递送, 被称为 RALA 的肽递送系统: 将 DNA 包裹到纳米颗粒中, 保护 DNA 在进入细胞前降解或

失活; 将纳米颗粒置于聚合物基质中, 将其制备成微针, 刺入皮肤后破坏皮肤角质层屏障, 用于包载 DNA 纳米颗粒的递送. 结果表明 RALA 对于防止

DNA 降解和保持 DNA 活性至关重要。由此可知, 微针递送核酸时与制剂技术, 如纳米制剂等相结合, 可以跨越细胞间与细胞内的生物屏障, 防止核酸失活, 保护核酸活性, 达到更好的递送效果。

3 总结与展望

目前, 有关微针与其他制剂技术如纳米制剂等结合的研究也越来越多, 两种或多种技术相结合, 能解决单独微针阵列无法解决的难题, 大大提升了微针阵列的应用潜力。而微针与医疗器械的结合, 能在一定程度上解决使用差异的问题, 能使微针阵列的应用更加简便, 有利于微针阵列的临床转化与推广。智能释药是医药发展的方向, 微针与其结合, 让微针能感知生理环境与外部刺激, 并根据此来释放药物, 应对机体的不同变化。针对不同的疾病可以设置不同的响应值, 如温度、酸碱度等, 能大幅度提高患者的依从性, 为微针给药系统带来更多的可能性。

然而, 微针用于生物大分子药物给药也存在一些问题。虽然以金属、石英等材料制备的固体微针已经商业化, 这对采用固体微针递送药物的推广具有重大的借鉴意义; 但固体微针存在无法定量给药的问题, 并且常常造成药物的浪费。采用涂层微针给药存在载药量较小的问题。可溶性和可生物降解的微针常常采用聚合物材料, 其机械性能难以与金属微针相提并论。受体积、机械强度和制备工艺的制约, 微针的载药量仍然无法很大, 因此同样要求药物具有高活性(日口服剂量 20 mg 以下), 这不利于其应用于多糖类药物。

另外大部分生物大分子药物的稳定性较差, 即使加入保护剂, 仍需要温和的制备工艺, 避免有机溶剂等生物相容性不好的试剂和辅料的使用, 这限制了较多新颖的制备工艺和基质材料的应用。为实现微针的临床应用, 微针必须实现工业化生产, 如何确保涂层微针或可溶性微针的含量均匀度, 是微针给药系统面临的难题之一。另外, 微针在使用过程中受许多人为因素的影响, 需要确保微针穿刺皮肤的有效性, 那么开发一种反馈系统是有必要的。而且由于微针刺入深度不一、个体皮肤厚度不同、微针使用部位不同等, 使得微针的实际给药剂量、给药深度等不尽相同, 这对那些需要精确控制给药剂量的药物是一个巨大的挑战。

尽管目前微针给药系统仍存在问题亟待解决, 但相信随着微针技术的不断发展, 微针与其他

制剂技术、医疗器械以及智能释药系统等的巧妙结合, 微针评价系统的不断完善以及微针给药系统监管体系的改进, 微针给药系统定能在临床上广泛用于大分子药物的经皮递送。

参 考 文 献

- [1] 郑俊民. 经皮给药新剂型. 北京: 人民卫生出版社, 1997
Zhen J M. New dosage form for transdermal administration. Beijing: People Health Press, 1997
- [2] Davidson A, Al-Qallaf B, Das D B. Transdermal drug delivery by coated microneedles: Geometry effects on effective skin thickness and drug permeability. *Chem Eng Res Des*, 2008, **86**(11A): 1196–1206
- [3] Singh M, Chakrapani A, O'hagan D. Nanoparticles and microparticles as vaccine-delivery systems. *Expert Review of Vaccines*, 2007, **6**(5): 797–808
- [4] Prow T W, Grice J E, Lin L L, *et al.* Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2011, **63**(6): 470–491
- [5] 孔 明, 程晓杰, 陈西广. 经皮给药中纳米制剂与皮肤的质构效关系. *生物化学与生物物理进展*, 2013, **40**(10): 1023–1030
Kong M, Chen X J, Chen X G. *Prog Biochem Biophys*, 2013, **40**(10): 1023–1030
- [6] Zhou C P, Liu Y L, Wang H L, *et al.* Transdermal delivery of insulin using microneedle rollers *in vivo*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010, **392**(1): 127
- [7] 刘 姝, 权英淑, 神山文男, 等. 新型经皮传递胰岛素透明质酸微针制剂的制备及性能考察. *沈阳药科大学学报*, 2010, **27**(1): 6–10
Liu S, Quan Y S, Shen S W N, *et al.* *Journal Of Shenyang Pharmaceutical University*, 2010, **27**(1): 6–10
- [8] Gupta J, Denson D D, Felner E I, *et al.* Rapid local anesthesia in humans using minimally invasive microneedles. *Clinical Journal of Pain*, 2012, **28**(2): 129–135
- [9] Donnelly R F, Singh T R R, Tunney M M, *et al.* Microneedle arrays allow lower microbial penetration than hypodermic needles *in vitro*. *Pharmaceutical Research*, 2009, **26**(11): 2513–2522
- [10] Glenn G M, Kenney R T. Mass vaccination: solutions in the skin. *Current Topics in Microbiology & Immunology*, 2006, **304** (1): 247–268
- [11] Combadiere B, Liard C. Transcutaneous and intradermal vaccination. *Human Vaccines*, 2011, **7**(8): 811–827
- [12] Matsuo K, Yokota Y, Zhai Y, *et al.* A low-invasive and effective transcutaneous immunization system using a novel dissolving microneedle array for soluble and particulate antigens. *Journal of Controlled Release*, 2012, **161**(1): 10–17
- [13] Sullivan S P, Koutsouanos D G, Del P M M, *et al.* Dissolving polymer microneedle patches for influenza vaccination. *Nature Medicine*, 2010, **16**(8): 915–920
- [14] Li G, Badkar A, S, Kolli C, *et al.* *In vitro* transdermal delivery of therapeutic antibodies using maltose microneedles. *International*

- Journal of Pharmaceutics, 2009, **368**(1): 109–115
- [15] Korkmaz E, Friedrich E E, Ramadan M H, *et al.* Therapeutic intradermal delivery of tumor necrosis factor- α antibodies using tip-loaded dissolvable microneedle arrays. *Acta Biomaterialia*, 2015, **24**: 96–105
- [16] Wang C, Ye Y, Hochu G M, *et al.* Enhanced cancer immunotherapy by microneedle patch-assisted delivery of anti-PD1 antibody. *Nano Letters*, 2016, **16**(4): 2334
- [17] Kochba E, Levin Y, Raz I, *et al.* Improved insulin pharmacokinetics using a novel microneedle device for intradermal delivery in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2011, **18**(9): 525–531
- [18] Lee I C, Wu Y C, Tsai S W, *et al.* Fabrication of two-layer dissolving polyvinylpyrrolidone microneedles with different molecular weights for *in vivo* insulin transdermal delivery. *Rsc Advances*, 2017, **7**(9): 5067–5075
- [19] Yu W, Jiang G, Liu D, *et al.* Fabrication of biodegradable composite microneedles based on calcium sulfate and gelatin for transdermal delivery of insulin. *Materials Science & Engineering C*, 2016, **71**: 725–734
- [20] Ma B, Liu S, Gan Z, *et al.* A PZT insulin pump integrated with a silicon microneedle array for transdermal drug delivery. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2006, **2**(5): 417–423
- [21] Chen H, Zhu H, Zheng J, *et al.* Iontophoresis-driven penetration of nanovesicles through microneedle-induced skin microchannels for enhancing transdermal delivery of insulin. *Journal of Controlled Release*, 2009, **139**(1): 63–72
- [22] Yu J, Zhang Y, Ye Y, *et al.* Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(27): 8260–8265
- [23] Yu J, Qian C, Zhang Y, *et al.* Hypoxia and H₂O₂ dual-sensitive vesicles for enhanced glucose-responsive insulin delivery. *Nano Letters*, 2017, **17**(2): 733–739
- [24] Fukushima K, Ise A, Morita H, *et al.* Two-layered dissolving microneedles for percutaneous delivery of peptide/protein drugs in rats. *Pharmaceutical Research*, 2011, **28**(1): 7–21
- [25] Tas C, Mansoor S, Kalluri H, *et al.* Delivery of salmon calcitonin using a microneedle patch. *International Journal of Pharmaceutics*, 2012, **423**(2): 257–263
- [26] Ameri M, Fan S C, Maa Y F. Parathyroid hormone PTH(1–34) formulation that enables uniform coating on a novel transdermal microprojection delivery system. *Pharmaceutical Research*, 2010, **27**(2): 303–313
- [27] Daddona P E, Ameri M, Von Stein T, *et al.* Rapid Glycemic Response with Glucagon Microneedle Patch in Normal Human Volunteers: A Stable, Ready-to-Use Transdermal Patch for Severe Hypoglycemia Treatment; proceedings of the DIABETES, F, 2014 [C]. AMER DIABETES ASSOC 1701 N BEAUREGARD ST, ALEXANDRIA, VA 22311-1717 USA
- [28] Liu S, Wu D, Quan Y S, *et al.* Improvement of transdermal delivery of exendin-4 using novel tip-loaded microneedle arrays fabricated from hyaluronic acid. *Molecular Pharmaceutics*, 2015, **13**(1): 432–444
- [29] Ito Y, Murano H, Hamasaki N, *et al.* Incidence of low bioavailability of leuprolide acetate after percutaneous administration to rats by dissolving microneedles. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, **407**(1–2): 126–131
- [30] Cormier M, Johnson B, Ameri M, *et al.* Transdermal delivery of desmopressin using a coated microneedle array patch system. *Journal of Controlled Release Official Journal of the Controlled Release Society*, 2004, **97**(3): 503–511
- [31] Ito Y, Yoshimitsu J I, Shiroyama K, *et al.* Self-dissolving microneedles for the percutaneous absorption of EPO in mice. *Journal of Drug Targeting*, 2006, **14**(5): 255–261
- [32] Peters E E, Ameri M, Wang X, *et al.* Erythropoietin-coated ZP-microneedle transdermal system: preclinical formulation, stability, and delivery. *Pharmaceutical Research*, 2012, **29** (6): 1618–1626
- [33] Chen J, Qiu Y, Zhang S, *et al.* Dissolving microneedle-based intradermal delivery of interferon- α -2b. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2016, **42**(6): 890–896
- [34] Kusamori K, Katsumi H, Sakai R, *et al.* Development of a drug-coated microneedle array and its application for transdermal delivery of interferon alpha. *Biofabrication*, 2016, **8**(1): 015006
- [35] Kim S, Park M, Yang H, *et al.* Development of a quantitative method for active epidermal growth factor extracted from dissolving microneedle by solid phase extraction and liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2016, **131**: 297–302
- [36] Lee Y B, Eun Y S, Lee J H, *et al.* Effects of topical application of growth factors followed by microneedle therapy in women with female pattern hair loss: a pilot study. *Journal of Dermatology*, 2013, **40**(1): 81–83
- [37] Takada K, Ito Y, Sato T, *et al.* Study on the effect of basic fibroblast growth factor (BFGF) loaded microneedle array chip on reducing scar formation. *Wound Repair & Regeneration*, 2014, **22** (1): A2–A2
- [38] Takada K, Ono I, Ito Y, *et al.* Basic study on the basic fibroblast growth factor loaded microneedle array chip. *Wound Repair & Regeneration*, 2014, **22**(1): A10–A10
- [39] Lee J W, Park J H, Prausnitz M R. Dissolving microneedles for transdermal drug delivery. *Biomaterials*, 2008, **29**(13): 2113–2124
- [40] Witting M, Obst K, Pietzsch M, *et al.* Feasibility study for intraepidermal delivery of proteins using a solid microneedle array. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, **486**(2): 52–58
- [41] Hu X, Yu J, Qian C, *et al.* H₂O₂-responsive vesicles integrated with transcutaneous patches for glucose-mediated insulin delivery. *ACS Nano*, 2017, **11**(1): 613–620
- [42] Ye Y, Yu J, Wang C, *et al.* Drug delivery: microneedles integrated with pancreatic cells and synthetic glucose-signal amplifiers for smart insulin delivery. *Advanced materials*, 2016, **28**(16): 3223
- [43] Windmiller J R, Valdés-Ramírez G, Zhou N, *et al.* Bicomponent microneedle array biosensor for minimally-invasive glutamate monitoring. *Electroanalysis*, 2011, **23**(10): 2302–2309

- [44] Mohan A M, Windmiller J R, Mishra R K, *et al.* Continuous minimally-invasive alcohol monitoring using microneedle sensor arrays. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, **91**: 574–579
- [45] Lanke S S S, Kolli C S, Strom J G, *et al.* Enhanced transdermal delivery of low molecular weight heparin by barrier perturbation. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, **365**(2): 26–33
- [46] Ito Y, Murakami A, Maeda T, *et al.* Evaluation of self-dissolving needles containing low molecular weight heparin (LMWH) in rats. *Int J Pharm*, 2008, **349**(1): 124–129
- [47] Gomaa Y A, Garland M J, Mcinnes F, *et al.* Laser-engineered dissolving microneedles for active transdermal delivery of nadroparin calcium. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik E V*, 2012, **82**(2): 299–307
- [48] Zhang Y, Yu J, Wang J, *et al.* Thrombin-responsive transcutaneous patch for auto-anticoagulant regulation. *Advanced materials*, 2017, **29**(4): 1604043
- [49] Mulligan R C. The basic science of gene therapy. *Science*, 1993, **260**(5110): 926–932
- [50] Deng Y, Chen J, Zhao Y, *et al.* Transdermal delivery of siRNA through microneedle array. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 21422
- [51] Pearton M, Saller V, Coulman S A, *et al.* Microneedle delivery of plasmid DNA to living human skin: Formulation coating, skin insertion and gene expression. *Journal of Controlled Release*, 2012, **160**(3): 561–569
- [52] Pamornpathomkul B, Wongkajornsilp A, Laiwattanapaisa W, *et al.* A combined approach of hollow microneedles and nanocarriers for skin immunization with plasmid DNA encoding ovalbumin. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, **12**: 885–898
- [53] Gonzalezgonzalez E, Speaker T J, Hickerson R P, *et al.* Silencing of reporter gene expression in skin using siRNAs and expression of plasmid DNA delivered by a soluble protrusion array device (PAD). *Molecular Therapy*, 2010, **18**(9): 1667–1674
- [54] Hooper J W, Golden J W, Ferro A M, *et al.* Smallpox DNA vaccine delivered by novel skin electroporation device protects mice against intranasal poxvirus challenge. *Vaccine*, 2007, **25**(10): 1814–1823
- [55] Daugimont L, Baron N, Vandermeulen G, *et al.* Hollow microneedle arrays for intradermal drug delivery and DNA electroporation. *The Journal of Membrane Biology*, 2010, **236**(1): 117–125
- [56] Wei Z, Zheng S, Wang R, *et al.* A flexible microneedle array as low-voltage electroporation electrodes for *in vivo* DNA and siRNA delivery. *Lab on A Chip*, 2014, **14**(20): 4093–4102
- [57] Lee K, Kim J D, Chang Y L, *et al.* A high-capacity, hybrid electro-microneedle for *in-situ* cutaneous gene transfer. *Biomaterials*, 2011, **32**(30): 7705–7710
- [58] 李 燕, 阳 俊, 刘桂英, 等. 基因治疗药物输递系统的研究现状及发展趋势. *生物化学与生物物理进展*, 2013, **40**(10): 998–1007
- [58] Li Y, Yang J, Liu G Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2013, **40**(10): 998–1007
- [59] Ruponen M, Honkakoski P, Rönkkö S, *et al.* Extracellular and intracellular barriers in non-viral gene delivery. *Journal of Controlled Release Official Journal of the Controlled Release Society*, 2003, **93**(2): 213–217
- [60] Mccaffrey J, Mccruden C M, Ali A A, *et al.* Transcending epithelial and intracellular biological barriers; a prototype DNA delivery device. *Journal of Controlled Release Official Journal of the Controlled Release Society*, 2016, **226**: 238–247

Microneedle Array Used for Transdermal Delivery of Biomacromolecules*

HUANG Ying-Cong, MA Feng-Sen**, ZHAN Hao-Hui, ZHANG Jie

(*Biologics and Biomaterials Laboratory, College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China*)

Abstract It's difficult for biomacromolecules to permeate the barrier of the stratum corneum. As a novel transdermal drug delivery system, microneedles not only greatly promote the transdermal rate and absorption of biological macromolecules, but also possess several advantages like minimal invasiveness, slight pain and convenience. In this paper, the advances in the application of microneedles loaded with biomacromolecule drugs were reviewed in detail, including the promotion of biomacromolecules by individual microneedle arrays (e.g. solid microneedles, hollow microneedles, coated microneedles and soluble microneedles) and combination of microneedles and other pharmaceutic techniques (such as microparticle delivery system), medical devices and intelligent drug-release system. The combinations between microneedle arrays and other technologies have potential to solve the problems that unable for the single microneedle delivery system. In addition, the current problems encountered of microneedle array technique are summarized, and the prospect of microneedles in the field of macromolecular drug delivery is forecasted.

Key words biomacromolecule drugs, microneedle arrays, transdermal drug delivery, applications

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0177

* This work was supported by a grant from The Key Science and Technology Innovation Team of Zhejiang Province (2013TD15).

**Corresponding author.

Tel: 86-571-88871500, E-mail: merrigen@126.com

Received: May 9, 2017 Accepted: August 14, 2017