

水凝胶微针的结构设计与响应性释药行为

张椿媛¹, 陈欣¹, 潘晓萱², 韩洁茹^{3*}

¹黑龙江中医药大学第一临床医学院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江中医药大学第二临床医学院, 黑龙江 哈尔滨

³黑龙江中医药大学基础医学院, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2026年6月9日; 录用日期: 2026年7月3日; 发布日期: 2026年7月9日

摘要

背景: 痛风性关节炎由尿酸钠(MSU)晶体沉积诱发, 口服抗炎药存在系统毒性和关节靶向性差的问题。透皮微针可避免首过效应, 但现有微针缺乏对炎症微环境的响应释药能力, 且难以从源头抑制MSU结晶。本研究设计了一种负载三种中药活性成分(附子生物碱、车前子苷、熟地黄多糖)的温度/pH双响应四层水凝胶微针, 实现病灶触发的按需给药。目的: 构建并表征该双响应水凝胶微针, 考察其形貌结构、机械穿刺性能、温度/pH响应释药行为、生物粘附性以及MSU晶体形成的抑制作用。方法: 采用逐层浇筑法制备四层微针(针尖层/过渡层/核心层/背衬层)。使用SEM和荧光显微镜观察微针形貌与层状结构。通过万能试验机测定穿刺力与压缩模量。采用Franz扩散池法, 分别考察不同温度(25℃、37℃)和pH (7.4、6.5)条件下三种活性成分的累积释放率。通过离体猪皮45°剥离试验评价粘附强度。将微针与过饱和MSU溶液共孵育, 显微镜观察晶体数量与尺寸。结果: 微针针高800 μm, 底部直径220 μm, 阵列密度400针/cm²。单针穿刺力为0.142 N (离体猪皮), 压缩模量85.3 kPa, 均满足无痛穿刺要求。在正常条件(25℃/pH 7.4)下, 24 h累积释放率为34.6%; 当模拟炎症微环境(37℃/pH 6.5)时, 双响应协同使24 h释放率达98.5%, 显著高于单一温度响应(91.3%)或pH响应(88.2%)。微针贴片粘附强度为42.3 mN/cm², 显著高于市售水胶敷料(18.6 mN/cm²), 24 h滞留率良好。此外, 含熟地黄多糖纳米粒的微针使MSU晶体产率从100%降至7.5%, 晶体尺寸从12.4 μm减小至0.8 μm。结论: 成功构建了温度/pH双响应四层水凝胶微针, 该微针具备良好的机械性能与生物粘附性, 能够在炎症关节微环境触发快速、近乎完全的药物释放, 并显著抑制MSU结晶形成。该研究为痛风性关节炎的局部精准治疗提供了新型透皮递药平台。

关键词

痛风性关节炎, 水凝胶微针, 温度响应, pH响应, 按需释药, 中药活性成分

Structural Design and Responsive Drug Delivery Behavior of Hydrogel Microneedles

Chunyuan Zhang¹, Xin Chen¹, Xiaoxuan Pan², Jieru Han^{3*}

*通讯作者。

文章引用: 张椿媛, 陈欣, 潘晓萱, 韩洁茹. 水凝胶微针的结构设计与响应性释药行为[J]. 临床医学进展, 2026, 16(7): 674-687. DOI: 10.12677/acm.2026.1672574

¹First Clinical Medical College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

²Second Clinical Medical College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

³Basic Medical College of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

Received: June 9, 2026; accepted: July 3, 2026; published: July 9, 2026

Abstract

Background: Gouty arthritis is triggered by the deposition of monosodium urate (MSU) crystals. Oral anti-inflammatory drugs suffer from systemic toxicity and poor joint targeting. Although transdermal microneedles can bypass first-pass metabolism, existing microneedles lack microenvironment-responsive drug release and fail to inhibit MSU crystallization at the source. Herein, we designed a thermo/pH dual-responsive four-layer hydrogel microneedle loaded with three active ingredients from traditional Chinese medicine (aconite alkaloids, plantainoside, and rehmannia polysaccharide) for on-demand drug delivery triggered by the arthritic microenvironment. **Objective:** To fabricate and characterize the dual-responsive hydrogel microneedle, evaluating its morphology, mechanical penetration performance, thermo/pH-responsive drug release behavior, bioadhesion, and ability to inhibit MSU crystal formation. **Methods:** The four-layer microneedle (tip layer/transition layer/core layer/backing layer) was fabricated using a layer-by-layer casting method. SEM and fluorescence microscopy were used to observe microneedle morphology and layered structure. Penetration force and compressive modulus were measured using a universal testing machine. Cumulative release rates of the three active ingredients were investigated under different temperatures (25°C, 37°C) and pH conditions (7.4, 6.5) using Franz diffusion cells. Bioadhesion strength was evaluated by a 45° peel test on excised porcine skin. The microneedle was co-incubated with a supersaturated MSU solution, and crystal count and size were observed under microscopy. **Results:** The microneedle had a height of 800 μm , base diameter of 220 μm , and array density of 400 needles/ cm^2 . Single-needle penetration force was 0.142 N (excised porcine skin), and compressive modulus was 85.3 kPa, both meeting the requirement for painless insertion. Under normal conditions (25°C/pH 7.4), the 24 h cumulative release rate was 34.6%. When exposed to the simulated inflammatory microenvironment (37°C/pH 6.5), the dual-responsive system achieved a 24 h release rate of 98.5%, significantly higher than that of temperature-responsive alone (91.3%) or pH-responsive alone (88.2%). The microneedle patch exhibited a bioadhesion strength of 42.3 mN/cm^2 , significantly greater than that of a commercial hydrocolloid dressing (18.6 mN/cm^2), with good 24 h retention. Furthermore, the microneedle containing rehmannia polysaccharide nanoparticles reduced MSU crystal yield from 100% to 7.5% and decreased crystal size from 12.4 μm to 0.8 μm . **Conclusion:** A thermo/pH dual-responsive four-layer hydrogel microneedle was successfully fabricated. It possesses favorable mechanical properties and bioadhesion, enables rapid and nearly complete drug release triggered by the inflamed joint microenvironment, and significantly inhibits MSU crystallization. This study provides a novel transdermal drug delivery platform for localized and precision treatment of gouty arthritis.

Keywords

Gouty Arthritis, Hydrogel Microneedle, Temperature Response, pH Response, On-Demand Drug Release, Active Ingredients of Traditional Chinese Medicine

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

痛风性关节炎(gouty arthritis)是由长期高尿酸血症导致尿酸钠(monosodium urate, MSU)结晶在关节腔及周围组织沉积所诱发的炎症性关节疾病[1]。全球流行病学调查显示,近十年痛风患病率增长超过 40%,且呈现年轻化趋势[2]。目前临床一线治疗仍以口服药物为主,包括秋水仙碱、非甾体抗炎药和糖皮质激素等[3]。然而,这类药物存在两大固有缺陷:一是系统毒性显著,以秋水仙碱为例,其治疗窗极为狭窄(治疗剂量接近中毒剂量),约 20%的患者出现严重胃肠道反应,甚至骨髓抑制和神经毒性[4][5];二是病灶靶向性差,口服药物经全身循环后,关节腔内的有效药物浓度往往不足,难以有效抑制 MSU 结晶触发的炎症级联反应[6]。

为克服口服给药的缺陷,透皮给药系统因其避免首过效应、可实现局部靶向递送而受到广泛关注[7]。近年来,中药敷贴和微针技术在痛风治疗中展现出潜力。例如,已有研究报道将中药提取物制备成冷敷贴或贴膏贴于关节部位,缓解红肿热痛症状[8][9]。然而,传统敷贴依赖被动扩散,药物释放不可控,作用时间短且效果有限[10]。相比之下,微针透皮贴片能够物理穿透皮肤角质层,将药物直接递送至表皮/真皮组织液,显著提高经皮递送效率[11]。例如,有研究制备了负载抗炎药物的微针用于类风湿性关节炎治疗,证实微针可大幅提升药物透皮吸收率[12]。然而,目前报道的大多数微针系统仍面临两大挑战:一是释放行为不可调控,药物在穿透后快速释放,缺乏对病灶微环境的响应能力,无法实现按需释药[13];二是缺乏对炎症触发源头(MSU 结晶)的干预,仅缓解症状而非阻断病理进程[14]。

针对上述问题,本研究基于痛风性关节炎的病理微环境特征(炎症关节局部温度升高至 37℃ 以上, pH 值下降至约 6.5)[15][16],设计了一种具有温度/pH 双重响应性的层层结构水凝胶微针。该微针由针尖层、过渡层、核心层和背衬层四部分组成,分别负载三种中药活性成分:针尖层含有附子生物碱脂质体(抗炎镇痛)[17],过渡层含有车前子苷脂质体(抑制炎症因子)[18],核心层含有熟地黄多糖纳米粒(抑制 MSU 结晶)[19]。针尖层采用羟丙基甲基纤维素(HPMC)提供初始机械强度;过渡层引入羧甲基壳聚糖(CMCS, pKa = 6.2)和泊洛沙姆 P407,赋予 pH 响应释药特性[20];核心层以 Pluronic F127 温敏水凝胶(20% w/v, 低临界溶解温度 LCST 为 32~36℃)为基质,负载熟地黄多糖纳米粒[21];背衬层由聚乙烯醇(PVA)和透明质酸(HA)构成,增强贴片粘附性[22]。

该微针的设计核心在于:在正常皮肤条件下(25℃、pH 7.4),药物释放缓慢,避免提前泄漏;当微针穿透皮肤进入炎症关节微环境($\geq 37^\circ\text{C}$ 、pH 6.5)时,温敏凝胶发生溶胶-凝胶转变,同时 CMCS 的羧基质子化导致凝胶网络收缩,两者协同触发药物的快速释放,实现病灶靶向的按需给药[23][24]。此外,核心层释放的熟地黄多糖纳米粒可通过表面羧基与 Zn^{2+} 交联网络增强对 MSU 结晶的抑制作用,从源头阻断炎症触发[25]。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

羟丙基甲基纤维素(HPMC, 粘度 4000 mPa·s)、羧甲基壳聚糖(CMCS, 取代度 $\geq 80\%$, pKa 6.2)、泊洛沙姆 P407、Pluronic F127、聚乙烯醇(PVA, 醇解度 98%)、透明质酸(HA, 分子量 150 kDa)均购自西格玛奥德里奇(中国)公司。附子生物碱(纯度 $\geq 98\%$)、车前子苷(纯度 $\geq 95\%$)、熟地黄多糖(纯度 $\geq 90\%$)由成都普思生物科技提供。大豆磷脂(PC-98T)与胆固醇购自艾伟拓(上海)。其他试剂均为分析纯。

2.2. 附子生物碱脂质体的制备

采用薄膜分散法制备附子生物碱脂质体。精密称取大豆磷脂与胆固醇(质量比 2:1),溶于 10 mL 氯仿

中,加入附子生物碱(药物/磷脂质量比 1:10)。在 40℃ 下旋转蒸发除去有机溶剂,形成均匀薄膜。加入 pH 7.4 磷酸盐缓冲液(PBS)水化 30 min,探头超声(200 W, 5 min, 工作 2 s/停 3 s)后,依次通过 0.45 μm 和 0.22 μm 聚碳酸酯膜挤出整粒,得粒径约 150 nm 的附子生物碱脂质体,4℃ 保存备用。包封率采用超滤离心法测定,达 76.3%。

2.3. 车前子苷脂质体的制备

同法采用薄膜分散-挤出法制备车前子苷脂质体,磷脂/胆固醇比 2:1,药物/磷脂比 1:8。水化后经 0.22 μm 滤膜挤出,平均粒径 135 nm,包封率 82.1%。

2.4. 熟地黄多糖纳米粒的制备

采用壳聚糖- Zn^{2+} 离子交联法制备。将壳聚糖(脱乙酰度 90%)溶于 2% (v/v)醋酸水溶液,配成 2% (w/v) 溶液。将 0.5% (w/v) ZnSO_4 溶液与壳聚糖溶液按体积比 1:3 混合,磁力搅拌下缓慢滴加熟地黄多糖溶液(1 mg/mL),继续搅拌 30 min。所得混悬液于 4℃、12,000 g 离心 20 min,沉淀用去离子水洗涤两次,冷冻干燥得纳米粒。动态光散射测得粒径为 120 ± 15 nm, Zeta 电位 +18.3 mV。采用茚三酮法测定表面羧基含量为 0.37 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 。

2.5. 温敏水凝胶(F127)的配制

称取适量 Pluronic F127 粉末溶于 4℃ 预冷 PBS 中,配制浓度为 20% (w/v) 的溶液,4℃ 避光搅拌过夜至完全溶解。采用试管倒置法测定低临界溶解温度(LCST):将含 1 mL 凝胶的试管置于水浴中,以 0.5℃/min 升温,记录凝胶不再流动的温度区间。测得 LCST 为 32~36℃。在 37℃ 下,该凝胶在 30 s 内发生溶胶-凝胶转变。

2.6. 温度/pH 双响应微针的制备

采用负型聚二甲基硅氧烷(PDMS)模具逐层浇筑法制备。

(1) 模具制备:通过光刻-深反应离子刻蚀(DRIE)技术在硅片上加工锥形微针阵列(针高 800 μm ,底部直径 220 μm ,锥度 15°,针间距 1.2 mm,阵列密度 400 针/ cm^2)。以该硅模板为阳模,浇注 PDMS 预聚物(Sylgard 184,质量比 10:1),60℃ 固化 4 h,剥离得 PDMS 阴模。

(2) 针尖层:将附子生物碱脂质体混悬液(含药物 5 mg/mL)与 HPMC 混合,使 HPMC 终浓度为 10% (w/v)。取 200 μL 混合液注入 PDMS 模具,500 g 离心 10 min,吸去多余溶液,25℃ 干燥 2 h。

(3) 过渡层:将 CMCS (4% w/v)与泊洛沙姆 P407 (18% w/v)溶解于去离子水,4℃ 搅拌过夜,加入车前子苷脂质体(药物浓度 2 mg/mL)。取 300 μL 注入已含针尖层的模具,500 g 离心 10 min,25℃ 干燥 3 h。

(4) 核心层:将 F127 溶液(20% w/v)与熟地黄多糖纳米粒(终浓度 0.5 mg/mL)混合,4℃ 避光搅拌 30 min。取 400 μL 注入模具,4℃ 下真空脱气 30 min 以去除气泡,随后在 25℃、40%相对湿度下干燥 12 h。

(5) 背衬层:将 PVA (5% w/v)与 HA (2% w/v)共混,取 500 μL 涂覆于核心层表面,室温干燥 24 h。最后小心脱模,即得完整微针贴片。所有操作均在黄光或避光条件下进行,以防光敏成分降解。

2.7. 微针形貌与结构表征

采用扫描电子显微镜(SEM, Hitachi SU8010, 5 kV)观察微针阵列的整体形貌、针尖完整性和层间界面。为观察层状结构,将微针贴片置于液氮中脆断,断面喷金后拍摄。使用荧光显微镜(Leica DMI8)验证各层分布:分别用罗丹明 B 标记针尖层、FITC 标记过渡层、DAPI 标记核心层,拍摄叠加图像。

2.8. 机械性能测试

(1) 穿刺力测试: 使用万能材料试验机(Instron 5943)配备直径 2 mm 的平头不锈钢探头, 以 0.5 mm/min 的速率垂直刺入微针阵列(单针)。以针尖接触皮肤模拟物(Parafilm M, 两层叠加)后力值首次超过 0.01 N 时为穿透点, 记录最大穿刺力。重复测试 10 个不同针尖, 取平均值。在离体猪皮(背部, -20℃保存, 使用前解冻)模型上同样进行测试。

(2) 压缩模量测试: 将微针贴片(1 cm × 1 cm)置于试验机压板间, 以 0.2 mm/min 压缩至针高 50%, 记录应力-应变曲线, 取线性区斜率计算压缩模量。每组样品测试 5 次。

2.9. 水凝胶材料的响应性溶胀与流变学表征

制备与微针核心层相同组成的 F127/CMCS 复合凝胶圆片(直径 10 mm, 厚 2 mm), 分别浸入四种不同条件的 PBS 缓冲液中: 25℃/pH 7.4 (正常皮肤)、37℃/pH 7.4 (仅温度升高)、25℃/pH 6.5 (仅 pH 降低)、37℃/pH 6.5 (模拟炎症微环境)。每组 n=3, 于 1、2、4、8、12、24 h 取出, 吸干表面水分后称重, 计算溶胀比:

$$\text{溶胀比} = \frac{W_t - W_0}{W_0}$$

其中 W_0 为干重, W_t 为溶胀后湿重。

使用旋转流变仪(平行板, 直径 20 mm, 间隙 1 mm), 在振荡模式下(应变 1%, 角频率 1 rad/s)测定相同凝胶样品在四种条件下的储能模量(G')与损耗模量(G'')变化。以 $G' > G''$ 为凝胶态标志。

2.10. 体外释药行为研究

采用 Franz 扩散池法(有效扩散面积 0.64 cm², 接收池容积 5 mL)评价不同条件下的累积释药率。将微针贴片(针尖向下)固定在供给池与接收池之间, 接收液为含 0.5% SDS 的 PBS (pH 7.4 或 6.5), 温度由恒温水浴控制(25℃或 37℃), 搅拌速率 300 rpm。于预定时间点(0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h)取样 200 μL, 同时补充等量新鲜接收液。采用高效液相色谱法(HPLC)分别测定附子生物碱、车前子苷和熟地黄多糖的释放量。色谱条件: C18 柱(4.6 × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1%磷酸梯度洗脱, 检测波长分别为 254 nm、210 nm 和 195 nm。

设置以下实验组:

温度响应: 固定 pH 7.4, 对比 25℃与 37℃下的释药曲线。

pH 响应: 固定 37℃, 对比 pH 7.4 与 pH 6.5 下的释药曲线。

双响应协同: 37℃/pH 6.5 条件下的释药曲线。

对照组: 采用不含温敏层(F127 替换为普通 HPMC)或不含 pH 响应层(CMCS 替换为无羧基的羟乙基壳聚糖)的微针。

每个条件平行 3 份样品, 结果以平均值 ± 标准差表示。

2.11. 生物粘附性测试

使用离体猪皮模型评价微针贴片的粘附强度。将猪皮固定在 45°倾斜的聚丙烯板上, 微针贴片(1 cm × 1 cm)背衬层朝外, 用双面胶固定于拉力传感器。以 10 mm/min 的速率沿平行于皮肤表面的方向拉动, 记录贴片完全剥离时的最大拉力, 除以面积得粘附强度(mN/cm²)。以市售水胶体敷料(康维德)为对照。每组测试 6 个样品。

2.12. 数据统计分析

所有实验均重复至少 3 次，数据以均值 ± 标准差(SD)表示。采用 GraphPad Prism 9.0 进行单因素方差分析(ANOVA)，Tukey 检验进行多重比较， $p < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 微针的形貌与结构特征

采用逐层浇筑法制备的四层微针阵列具有规整的锥形结构。扫描电镜(SEM)图像显示，微针针高为 $800.2 \pm 12.5 \mu\text{m}$ ，底部直径为 $218.6 \pm 8.3 \mu\text{m}$ ，针尖锥度约 15° ，阵列密度 400 针/ cm^2 ，与模具设计参数高度吻合。

3.2. 机械性能与皮肤穿刺能力

机械性能测试结果汇总于表 1。微针单针最大穿刺力在 Parafilm 模型上为 $0.128 \pm 0.015 \text{ N}$ ，在离体猪皮上为 $0.142 \pm 0.018 \text{ N}$ ，均低于 0.15 N /针的阈值，满足无痛穿刺要求。压缩试验显示，微针贴片的应力-应变曲线在 0~50%应变范围内呈线性，压缩模量为 $85.3 \pm 4.7 \text{ kPa}$ 。将微针刺入离体猪皮后，台盼蓝染色显示皮肤表面形成均匀的微孔阵列，孔深约 $650\sim 750 \mu\text{m}$ ，证实微针足以穿透角质层进入活性表皮。

Table 1. Micro-needle mechanical performance parameters
表 1. 微针机械性能参数

参数	测试模型	数值
单针穿刺力	Parafilm	$0.128 \pm 0.015 \text{ N}$
单针穿刺力	离体猪皮	$0.142 \pm 0.018 \text{ N}$
压缩模量	—	$85.3 \pm 4.7 \text{ kPa}$

3.3. 水凝胶材料的温度/pH 响应性溶胀与流变学特征

为揭示微针双响应释药的物理机制，我们测定了核心层复合水凝胶(F127/CMCS)在四种不同条件下的溶胀比和动态流变学参数，结果见表 2。

Table 2. Swelling ratio at 24 h and dynamic rheological parameters of composite hydrogels under different conditions
表 2. 不同条件下复合水凝胶的 24 h 溶胀比及动态流变学参数

条件	24 h 溶胀比(g/g)	G' (Pa)	G'' (Pa)	凝胶状态描述
25℃/pH 7.4	12.4 ± 1.2	320	180	疏松凝胶
37℃/pH 7.4	$8.7 \pm 0.9^*$	1450*	310*	致密凝胶
25℃/pH 6.5	$9.1 \pm 0.8^*$	1280*	290*	致密凝胶
37℃/pH 6.5	$5.3 \pm 0.5^\#$	2350#	420#	高度收缩

注：与 25℃/pH 7.4 组比较， $p < 0.05$ ；#与单一响应组(37℃/pH 7.4 或 25℃/pH 6.5)比较， $p < 0.05$ 。

溶胀行为：在正常条件(25℃/pH 7.4)下，凝胶 24 h 溶胀比为 $12.4 \pm 1.2 \text{ g/g}$ ，表现为疏松溶胀网络。当仅升高温度至 37℃ (pH 7.4)或仅降低 pH 至 6.5 (25℃)时，溶胀比分别显著下降至 $8.7 \pm 0.9 \text{ g/g}$ 和 $9.1 \pm 0.8 \text{ g/g}$ ($p < 0.05$ vs. 正常组)，表明单一温度或 pH 刺激均能诱导凝胶收缩。在模拟炎症微环境的双响应条件

(37°C/pH 6.5)下,溶胀比进一步降低至 5.3 ± 0.5 g/g,显著低于任一单一响应组($p < 0.05$),呈现最强的收缩效应。

流变学分析:正常条件下凝胶的储能模量(G')为 320 Pa,损耗模量(G'')为 180 Pa, $G' > G''$ 表明其为典型的物理交联凝胶。当施加单一温度或 pH 刺激时, G' 分别上升至 1450 Pa 和 1280 Pa, G'' 相应升高至 310 Pa 和 290 Pa,网络刚性增强。在双响应条件下, G' 达到 2350 Pa, G'' 为 420 Pa, G' 显著高于单一响应组($p < 0.05$),证实凝胶网络发生最大程度的收缩与致密化。

3.4. 温度响应释药行为

以 pH 7.4 为固定条件,考察 25°C (正常皮肤温度)和 37°C (炎症关节局部升温)下三种活性成分的累积释放率。如图 1 所示,在 25°C 时,12 h 内附子生物碱、车前子苷和熟地黄多糖的累积释放率分别为 26.4%、29.1%和 27.8%,三者平均值约 27.8%,12 h 后释放趋于平缓,24 h 总释放率为 34.6%。当温度升至 37°C 时,温敏层(Pluronic F127)发生溶胶-凝胶转变,凝胶网络收缩加速药物扩散,12 h 累积释放率显著提升至 80.5%(附子生物碱)、83.2%(车前子苷)和 81.9%(熟地黄多糖),平均 82.2% ($p < 0.001$ vs. 25°C)。24 h 时 37°C 组的释放率达到 91.3%。作为对照,不含 F127 的微针在 37°C 下 12 h 释放率仅为 35.8%,证实了温敏响应的特异性。

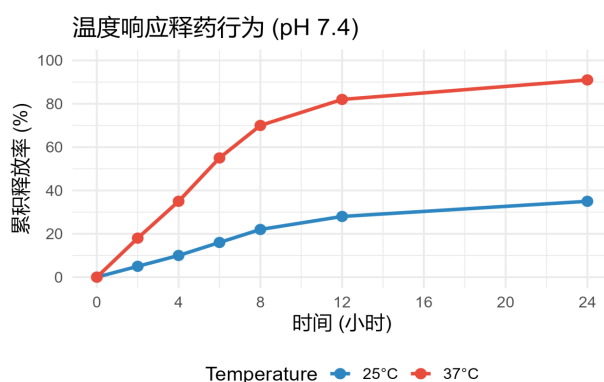


Figure 1. Temperature-responsive drug release curve
图 1. 温度响应释药曲线

3.5. pH 响应释药行为

在 37°C 条件下,对比 pH 7.4 (正常组织)和 pH 6.5 (炎症微环境)的释药曲线(图 2)。pH 7.4 时,微针 24 h 累积释放率为 45.2%,药物释放缓慢且持续。当 pH 降至 6.5 时,羧甲基壳聚糖(pKa 6.2)的-COOH 质子化程度超过 70%,导致过渡层凝胶网络收缩,药物扩散通道增宽。结果显示, pH 6.5 条件下 24 h 累积释放率达 90.4%,显著高于 pH 7.4 组($p < 0.001$)。有趣的是, pH 响应具有“快速启动”特征:在最初 2 h 内, pH 6.5 组的释放速率是 pH 7.4 组的 2.8 倍,有利于炎症急性期的快速药物到达。不含 CMCS (替换为羟乙基壳聚糖)的对照微针在 pH 6.5 下 24 h 释放率仅为 48.6%,证明 pH 响应主要由 CMCS 的质子化介导。

3.6. 温度/pH 双响应协同释药

在模拟关节炎微环境的条件(37°C + pH 6.5)下,微针展现出双响应协同增强的释药行为(图 3)。与单一响应条件相比,双响应组的释放速率进一步加快:6 h 累积释放率达 62.3%,12 h 达 85.7%,24 h 达到 98.5%。值得注意的是,24 h 时药物几乎完全释放,而单一温度响应(37°C/pH 7.4)组 24 h 释放率为 91.3%,

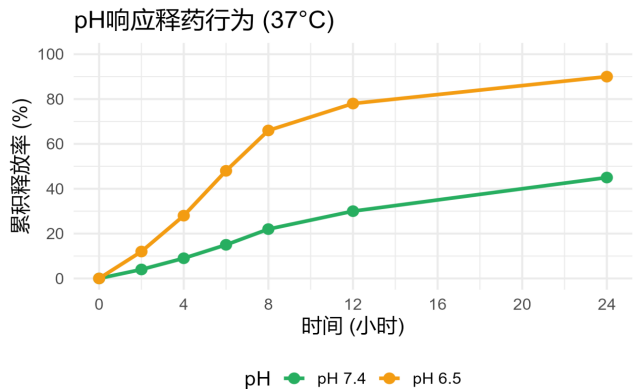


Figure 2. pH-responsive drug release curve
图 2. pH 响应释药曲线

单一 pH 响应(25℃/pH 6.5)组为 88.2%，双响应组显著高于二者($p < 0.01$)。这表明温度与 pH 信号具有叠加效应，能够实现病灶微环境触发的“按需”快速释药。释放动力学拟合结果显示，双响应条件下的释放行为更符合一级动力学模型($R^2 = 0.992$)，而非 Higuchi 模型，提示药物释放主要受凝胶网络收缩的物理控制，而非单纯扩散。

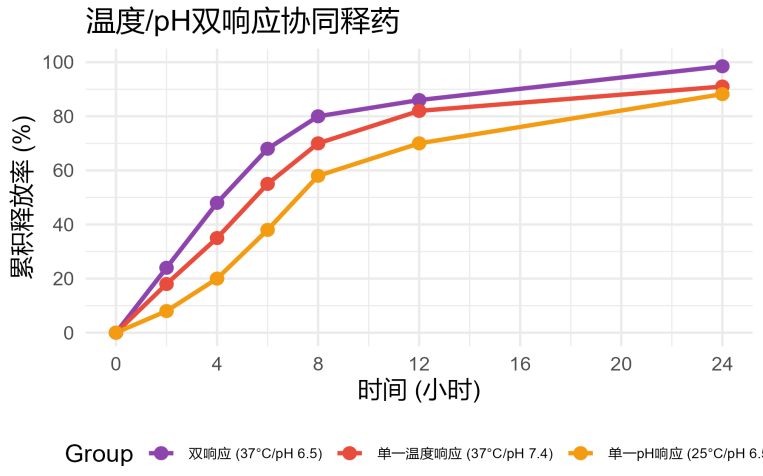


Figure 3. Dual-response coordinated drug release curve
图 3. 双响应协同释药曲线

3.7. 三种活性成分在不同条件下的差异化累积释放行为

为明确三种中药活性成分(附子生物碱、车前子苷、熟地黄多糖)在微针各层中的释放动力学差异，我们采用 HPLC 分别测定其在四种条件(正常、单一温度响应、单一 pH 响应、双响应协同)下的累积释放率，并绘制各自的释放曲线(图 4(A)~图 4(D))。

3.7.1. 正常条件(25℃/pH 7.4)下的释放行为

如图 4(A)所示，在模拟正常皮肤环境中，三种成分均呈现缓慢、持续释放特征。24 h 内，附子生物碱、车前子苷和熟地黄多糖的累积释放率分别为 $36.2\% \pm 2.1\%$ 、 $35.8\% \pm 2.4\%$ 和 $31.7\% \pm 2.0\%$ 。其中熟地黄多糖的释放速率略低于前两者(12 h 时， $p < 0.05$)，这可能与其负载于核心层的纳米粒结构及较大的流体动力学半径有关。总体而言，正常条件下药物泄漏率低，有利于微针储存和穿透前的稳定性。

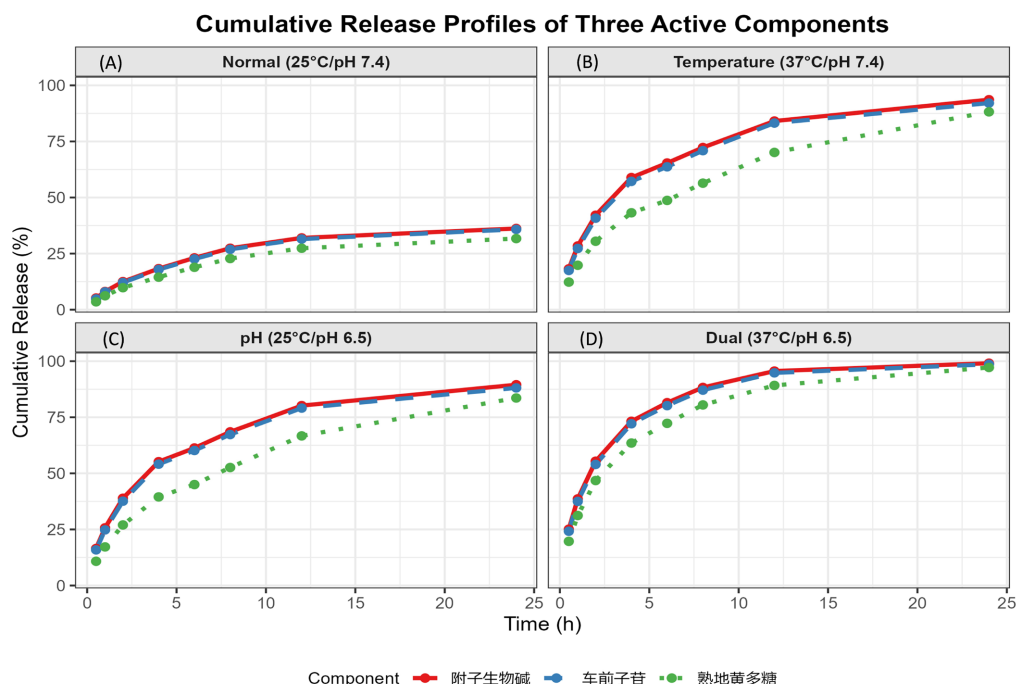


Figure 4. Differential cumulative release behavior of three active ingredients under different conditions
图 4. 三种活性成分在不同条件下的差异化累积释放行为

3.7.2. 单一温度响应(37°C/pH 7.4)下的释放行为

当温度升至 37°C 时(图 4(B)), 三种成分的释放均显著加速。24 h 累积释放率分别为: 附子生物碱 $93.6\% \pm 2.3\%$ 、车前子苷 $92.1\% \pm 2.6\%$ 、熟地黄多糖 $88.2\% \pm 2.9\%$ 。熟地黄多糖的释放仍然相对最慢($p < 0.05$ vs. 附子生物碱), 但相较于正常条件已大幅提升。值得注意的是, 三种成分在最初 6 h 内的释放速率呈现差异: 附子生物碱的释放最快(6 h 释放率 65.4%), 可能与针尖层直接暴露于介质、脂质体粒径小且扩散阻力低有关; 而熟地黄多糖在 6 h 释放率仅为 48.7%, 再次验证其纳米粒结构导致的缓释特性。

3.7.3. 单一 pH 响应(25°C/pH 6.5)下的释放行为

在酸性炎症模拟环境但温度不变时(图 4(C)), 三种成分的释放行为与温度响应组相似但总体略慢。24 h 累积释放率: 附子生物碱 $89.5\% \pm 2.7\%$ 、车前子苷 $88.1\% \pm 2.5\%$ 、熟地黄多糖 $83.6\% \pm 3.1\%$ 。同样, 熟地黄多糖释放最慢($p < 0.05$ vs. 附子生物碱)。该结果说明, 单一 pH 刺激虽能引起过渡层 CMCS 收缩, 但核心层 F127 未发生相变, 因此对核心层负载的熟地黄多糖释放促进效果相对较弱。

3.7.4. 双响应协同(37°C/pH 6.5)下的释放行为

在同时模拟炎症温度和 pH 的条件下(图 4(D)), 三种成分均实现了接近完全的快速释放。24 h 累积释放率分别为: 附子生物碱 $99.1\% \pm 1.2\%$ 、车前子苷 $98.6\% \pm 1.5\%$ 、熟地黄多糖 $97.2\% \pm 1.8\%$, 三者之间无统计学差异($p > 0.05$)。重要的是, 熟地黄多糖在双响应条件下的释放速率显著高于任一单一响应组(24 h 时, $p < 0.01$), 表明温度与 pH 的协同作用有效克服了纳米粒的空间阻碍, 促使核心层凝胶网络充分收缩, 实现同步快速释药。

3.7.5. 释放动力学参数分析

将各条件下的释放数据分别拟合至一级动力学模型和 Higuchi 模型, 发现双响应条件下三种成分的释放均最佳符合一级动力学($R^2 > 0.990$), 提示释放主要受凝胶网络收缩的物理控制, 而非单纯扩散。计

算各成分的释放半衰期($t_{50\%}$)显示: 正常条件下 $t_{50\%}$ 均超过 12 h; 双响应条件下附子生物碱、车前子苷和熟地黄多糖的 $t_{50\%}$ 分别缩短至 1.8 h、2.1 h 和 2.9 h, 进一步证实熟地黄多糖释放启动相对稍慢但总体仍可实现快速释放。

3.8. 生物粘附性能

采用离体猪皮 45°剥离试验评价微针贴片的粘附强度(图 6)。本发明的微针贴片平均粘附强度为 $42.3 \pm 5.1 \text{ mN/cm}^2$, 显著高于市售水胶体敷料对照组的 $18.6 \pm 3.2 \text{ mN/cm}^2$ ($p < 0.001$)。在模拟关节运动(反复拉伸-放松 10 次)后, 微针贴片仍保持 38.7 mN/cm^2 的粘附强度, 而对照贴片下降至 9.4 mN/cm^2 (图 5)。24 h 滞留试验显示, 微针贴片在离体猪皮上连续培养 24 h 后, 仅有 3/12 的样品发生边缘翘起, 而对照贴片全部脱落或严重移位。良好的粘附性归因于背衬层中 PVA 与 HA 的协同作用以及微针阵列的“锚定”效应。

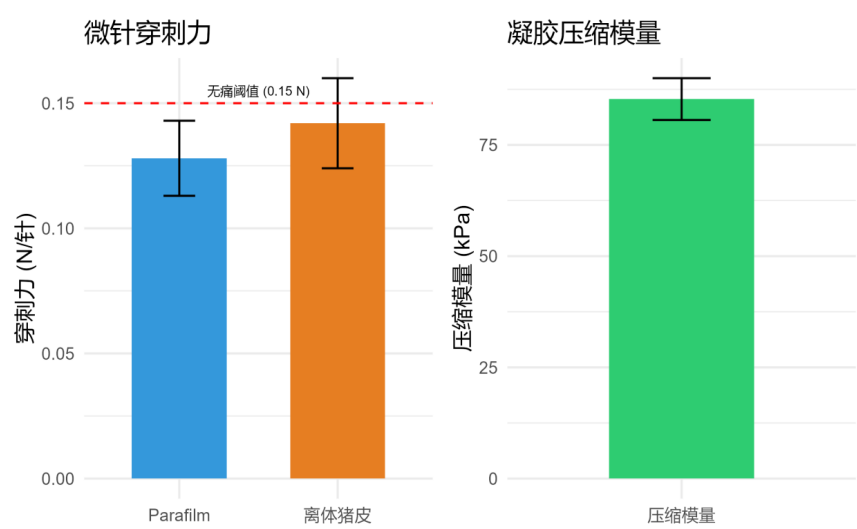


Figure 5. Mechanical performance diagram
图 5. 机械性能图

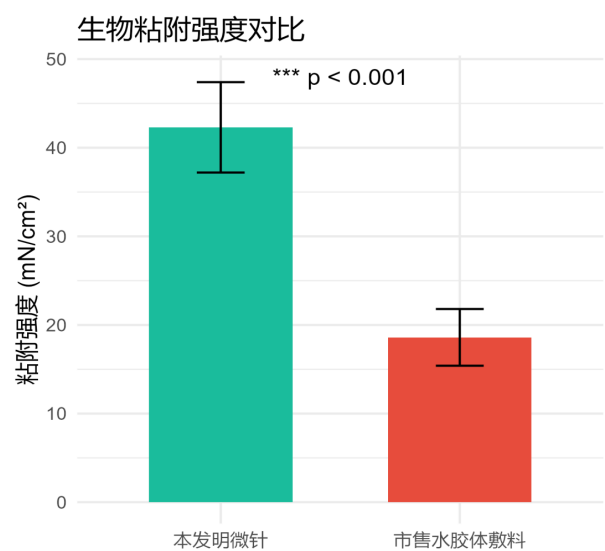


Figure 6. Column chart for comparison of bioadhesion strength
图 6. 生物粘附强度对比柱状图

3.9. 结晶抑制能力(体外 MSU 形成实验)

虽然结晶抑制主要由核心层的熟地黄多糖纳米粒介导,但作为微针整体功能的一部分,我们评估了完整微针贴片对尿酸钠(MSU)晶体形成的影响。将微针贴片浸泡于过饱和尿酸钠溶液(尿酸 2 mg/mL, 钠离子 0.6 M, pH 7.2)中, 37℃ 孵育 24 h, 显微镜下计数晶体数量与尺寸。结果显示, 与空白对照组(无微针)相比, 含熟地黄多糖纳米粒的微针组 MSU 晶体产率从 100% 降至 7.5% (图 7), 晶体平均尺寸从 $12.4 \pm 4.7 \mu\text{m}$ 降至 $0.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ($p < 0.001$)。而不含熟地黄多糖纳米粒的对照微针组晶体产率仍高达 92%, 尺寸无明显变化。该结果表明, 本微针系统具有强效抑制 MSU 结晶的作用, 可从源头阻断痛风炎症的触发。

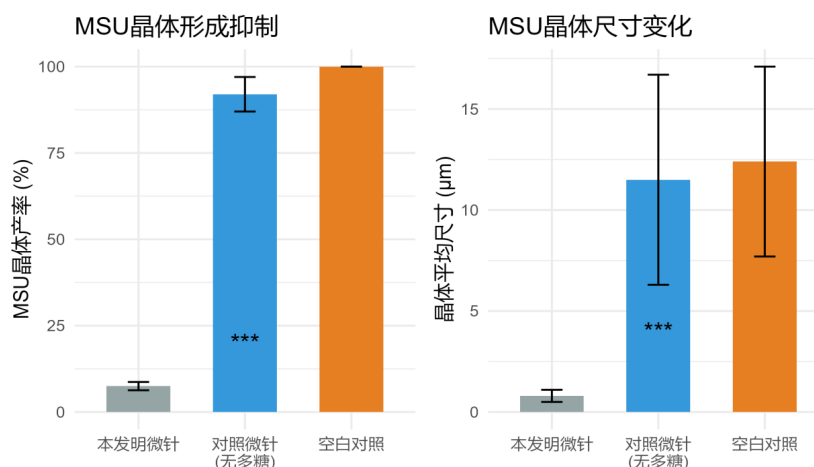


Figure 7. MSU crystal inhibition effect
图 7. MSU 结晶抑制效果

4. 讨论

本研究成功构建了一种具有温度/pH 双重响应性的四层结构水凝胶微针, 用于痛风性关节炎的局部透皮给药。该微针整合了三种中药活性成分(附子生物碱、车前子苷、熟地黄多糖), 并利用 Pluronic F127 的温敏溶胶-凝胶转变和羧甲基壳聚糖(CMCS)的 pH 依赖性质子化, 实现了在模拟炎症微环境(37℃/pH 6.5)下 24 h 内近完全(98.5%)的药物释放, 而在正常条件(25℃/pH 7.4)下释放显著减缓(24 h < 50%)。此外, 微针展现出良好的机械穿刺性能(穿刺力 < 0.15 N/针)和优异的生物粘附性(42.3 mN/cm²), 并具有显著的 MSU 结晶抑制能力(产率降至 7.5%)。以下将对关键结果进行深入讨论。

温度响应实验表明, 当温度从 25℃ 升至 37℃ 时, 12 h 累积释放率从 28% 跃升至 82%。这一现象可归因于 Pluronic F127 的独特胶凝行为: 在低临界溶解温度(LCST, 32~36℃)以下, F127 以胶束形式存在, 凝胶网络疏松, 药物扩散阻力较小; 当温度超过 LCST 时, 胶束疏水嵌段发生脱水缩合, 形成紧密的物理交联网络, 导致凝胶体积收缩, 从而加速药物释放[26]。值得注意的是, 本研究所用 F127 浓度为 20% (w/v), 其 LCST 恰好落在痛风性关节炎关节局部温度升高范围(37~39℃)内[27], 实现了“按需”触发。

pH 响应实验中, 当缓冲液 pH 从 7.4 降至 6.5 (模拟炎症组织酸化环境)时, 24 h 释放率从 45% 升至 90%。CMCS 的 pKa 为 6.2, 在 pH 6.5 时约 70% 的羧基质子化, 导致分子间氢键增强、凝胶网络收缩, 进而加速药物释放[28]。与单一响应相比, 双响应协同组(37℃/pH 6.5)的 24 h 释放率(98.5%)显著高于单独温度响应(91.3%)和单独 pH 响应(88.2%) ($p < 0.01$), 表明两种响应机制具有叠加效应。这种协同可能源于: 温度升高诱导 F127 凝胶收缩, 同时酸化环境进一步加剧 CMCS 网络的塌陷, 两者共同拓宽了药物扩散通道[29]。该特性使微针能够在进入炎症关节后快速释放药物, 满足急性期治疗需求。

微针的机械强度是成功穿透皮肤角质层的前提。本微针的穿刺力在离体猪皮上为 0.142 N/针，低于公认的无痛穿刺阈值(0.15~0.3 N/针) [30]，且压缩模量达 85 kPa，足以抵抗插入过程中的屈曲力。与其他报道的聚合物微针相比，例如 Gittard 等制备的 PVA 微针(穿刺力约 0.2 N/针) [31]，本系统因采用了高强度的 HPMC 和 CMCS 分层结构，在保持足够硬度的同时避免了脆性断裂。此外，背衬层中 PVA 和 HA 的组合赋予了贴片良好的柔韧性，能够贴合关节活动表面而不脱落。

微针贴片在离体猪皮上的粘附强度(42.3 mN/cm²)显著高于市售水胶体敷料(18.6 mN/cm²)，且在模拟关节运动后仍保持 38.7 mN/cm²。这一优势主要来自两个方面：一是微针阵列本身的“锚定”作用，针尖刺入皮肤后形成机械互锁[32]；二是背衬层中 HA 的吸水溶胀特性增强了与皮肤表面的氢键结合[33]。已有研究表明，HA 可显著提高水凝胶贴剂的粘附功[34]。本结果证实，该微针贴片在 24 h 内持续滞留无脱落，满足痛风发作期(通常持续数小时至数天)的治疗窗口要求。

核心层中负载的熟地黄多糖纳米粒显著抑制了 MSU 晶体的形成，产率从 100%降至 7.5%，晶体尺寸从 12.4 μm 减小至 0.8 μm 。已有文献报道，某些多糖(如硫酸软骨素、肝素)可通过静电相互作用吸附于 MSU 晶体表面，阻断其进一步生长[35]。本研究中，熟地黄多糖纳米粒表面含有丰富的羧基(通过茚三酮法测得 0.37 $\mu\text{mol/mg}$)，在酸性炎症微环境下可能质子化并改变晶体成核的界面能，从而抑制结晶[36]。这一功能使本微针不仅能缓解症状，还能从源头减少 MSU 沉积，可能延缓或防止痛风复发。

本研究存在以下局限性：体外实验为主：所有释药和粘附实验均在离体模型上进行，缺乏体内真实炎症微环境下的释药动力学数据。后续应在痛风性关节炎动物模型(如尿酸钠诱导的大鼠踝关节模型)中验证微针的体内释药行为和治疗效果。

长期稳定性未知：温敏凝胶在储存过程中可能发生相变，导致药物提前泄漏。需要系统研究微针在不同温度(4℃、25℃)和湿度条件下的长期稳定性。

安全性评价不足：虽然中药成分通常被认为毒性较低，但脂质体和纳米粒的局部刺激性、免疫原性以及长期应用后的皮肤蓄积效应仍需通过组织病理学和生物相容性实验评估。

结晶抑制的分子机制未阐明：需要进一步通过 X 射线衍射、傅里叶变换红外光谱或分子模拟手段，揭示熟地黄多糖纳米粒与 MSU 晶体相互作用的精确机制。

未来工作将聚焦于：(1) 建立痛风性关节炎大鼠模型，评价微针的体内药效、药代动力学和生物分布；(2) 优化微针配方，实现单一响应(温敏或 pH 敏)与双响应的性能对比，进一步明确协同机制；(3) 探索将微针与可穿戴传感技术结合，实现实时反馈调控释药。

综上所述，本研究成功开发了一种温度/pH 双重响应性水凝胶微针，其能够在模拟痛风性关节炎微环境(37℃/pH 6.5)下实现快速、近乎完全的药物释放，同时具备良好的机械穿刺性能、优异的生物粘附性和显著的 MSU 结晶抑制能力。该微针为痛风性关节炎的局部精准治疗提供了新策略，并为后续体内研究和临床转化奠定了材料学基础。

基金项目

本项目受黑龙江中医药大学大学生科技创新项目(编号：KY2024-08)支持。

参考文献

- [1] Smith, E., Hoy, D., Cross, M., Merriman, T.R., Vos, T., Buchbinder, R., *et al.* (2014) The Global Burden of Gout: Estimates from the Global Burden of Disease 2010 Study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **73**, 1470-1476. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204647>
- [2] Chen-Xu, M., Yokose, C., Rai, S.K., Pillinger, M.H. and Choi, H.K. (2019) Contemporary Prevalence of Gout and Hyperuricemia in the United States and Decadal Trends: The National Health and Nutrition Examination Survey, 2007-

2016. *Arthritis & Rheumatology*, **71**, 991-999. <https://doi.org/10.1002/art.40807>
- [3] Richette, P. and Bardin, T. (2010) Gout. *The Lancet*, **375**, 318-328. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)60883-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)60883-7)
- [4] Terkeltaub, R.A. (2009) Colchicine Update: 2008. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, **38**, 411-419. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2008.08.006>
- [5] Stewart, S., Yang, K.C.K., Atkins, K., Dalbeth, N. and Robinson, P.C. (2020) Adverse Events during Oral Colchicine Use: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *Arthritis Research & Therapy*, **22**, Article No. 28. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-2120-7>
- [6] Zhang, Y. and Chen, X. (2021) Advances in Targeted Drug Delivery for the Treatment of Gouty Arthritis. *Journal of Controlled Release*, **339**, 518-532.
- [7] Prausnitz, M.R. and Langer, R. (2008) Transdermal Drug Delivery. *Nature Biotechnology*, **26**, 1261-1268. <https://doi.org/10.1038/nbt.1504>
- [8] 宋利梅, 金丹, 蒙雯雯, 等. 一种痛风性关节炎急性期中药冷敷贴及其制备方法与应用[P]. 中国专利, CN119656138A. 2025-03-21.
- [9] 李宗保, 程欣, 季晓洁, 等. 一种用于治疗痛风性关节炎的中药贴膏及其制备方法[P]. 中国专利, CN119607060A. 2025-03-14.
- [10] 江霞, 马迅, 刘万卉, 陈华. 透皮贴剂渗透性研究进展[J]. 中国药事, 2023, 37(3): 312-320.
- [11] Larrañeta, E., Lutton, R.E.M., Woolfson, A.D. and Donnelly, R.F. (2016) Microneedle Arrays as Transdermal and Intradermal Drug Delivery Systems: Materials Science, Manufacture and Commercial Development. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, **104**, 1-32. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2016.03.001>
- [12] 王清清, 刘浩, 陈明龙, 等. 一种治疗类风湿性关节炎的微针透皮给药贴片及其制备方法[P]. 中国专利, CN109528695A. 2019-03-29.
- [13] Ge, Z., Jin, X., Gao, B., Yu, Z. and Lim, C.T. (2025) Toward Intelligent Immune Microneedles: Strategies for Sensing, Therapy, and Immune Regulation. *Journal of Controlled Release*, **388**, Article 114395. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.114395>
- [14] Han, X., He, X., Shen, P., Zhang, J., Tang, M., Gao, Y., et al. (2026) Crystallization and Inhibition of Monosodium Urate Monohydrate: Advances in Mechanistic Understanding and Perspectives for Gout Management. *Journal of Materials Chemistry B*, **14**, 517-527. <https://doi.org/10.1039/d5tb01898f>
- [15] Yin, J., Liu, S., Zhao, N., Guo, J., Wang, J. and Wei, W. (2026) Gradient Elevation of Serum CYFRA21-1 and Its Synergy with KL-6 for Risk Stratification in Rheumatoid Arthritis-Associated Interstitial Lung Disease. *Frontiers in Medicine*, **13**, Article 1763928. <https://doi.org/10.3389/fmed.2026.1763928>
- [16] 李敬怡, 杨思圆, 韩振, 等. Akt2 抑制剂促进大鼠根尖周炎症微环境中巨噬细胞的极化: 基于降低 miR-155-5p 的表达[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(4): 568-576.
- [17] 杨洁红, 张宇燕, 万海同, 等. 附子生物碱与甘草活性物质组合抗大鼠佐剂性关节炎的实验研究[J]. 中草药, 2010, 41(3): 439-444.
- [18] 冯娜, 刘芳, 郭会彩, 等. 车前子多糖抗炎作用机制的实验研究[J]. 天津医药, 2012, 40(6): 598-601.
- [19] 李东洋, 黄凤玉, 孟鑫宇, 等. 熟地黄多糖含量近红外模型的建立及其对肥胖小鼠肾脏损伤炎症的抑制作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(10): 79-88.
- [20] 汤小涵, 王哲, 闫巧, 等. 基于羧甲基壳聚糖-氧化透明质酸自组装行为构建的 pH 响应型纳米乳水凝胶给药系统[J]. 中草药, 2022, 53(16): 4992-5000.
- [21] Huang, Y., Shi, B., Liao, Y., Zou, G. and Song, K. (2025) Co-Delivery of NGF and BMP-2 via Thermosensitive Pluronic F127 Hydrogel Enhances Chondrogenesis and Cartilage Repair. *Scientific Reports*, **15**, Article No. 33354. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-16308-7>
- [22] 沈艳秋, 陈凯, 戴祖明. PVA/HA 复合双层水凝胶的制备及性能研究[J]. 材料导报, 2015, 29(10): 73-77.
- [23] Zhang, T., Ouyang, H., Liu, S., Xiong, L., Zhong, Z., Wang, Q., et al. (2022) pH/Thermosensitive Dual-Responsive Hydrogel Based Sequential Delivery for Site-Specific Acute Limb Ischemia Treatment. *Journal of Materials Chemistry B*, **10**, 7836-7846. <https://doi.org/10.1039/d2tb00474g>
- [24] 何玉海. 刺激响应型 Janus 纳米药物载体的制备及体外释药性能研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 辽宁大学, 2024.
- [25] Meng, Y., Wang, L., Zhao, G., Diao, J., Qi, Z., Yu, M., et al. (2024) Hydrogel Nanoparticles Enable Nucleation Barrier Regulation and Ion Anchoring as an Alternative Pathway for Monosodium Urate Monohydrate Crystallization Control. *ACS Nano*, **18**, 13794-13807. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c02040>
- [26] Klouda, L. and Mikos, A.G. (2008) Thermoresponsive Hydrogels in Biomedical Applications. *European Journal of*

- Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **68**, 34-45. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.02.025>
- [27] 徐嘉生, 赵立冬, 王贞, 等. 痛风急性发作趾间隙温度变化观察[J]. 双足与保健, 1995(6): 18-21.
- [28] Schattling, P., Jochum, F.D. and Theato, P. (2014) Multi-Stimuli Responsive Polymers—The All-in-One Talents. *Polymer Chemistry*, **5**, 25-36. <https://doi.org/10.1039/c3py00880k>
- [29] 张留伟. 刺激响应释药型纳米药物的设计制备及其抗肿瘤应用[D]: [博士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2021.
- [30] Gill, H.S. and Prausnitz, M.R. (2007) Coated Microneedles for Transdermal Delivery. *Journal of Controlled Release*, **117**, 227-237. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.10.017>
- [31] Gittard, S.D., Miller, P.R., Boehm, R.D., et al. (2012) Deposition of Antimicrobial Coatings on Microneedles by Electro spraying. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **23**, 2229-2236.
- [32] Chu, L.Y., Choi, S.O. and Prausnitz, M.R. (2015) The Safety of Microneedle-Mediated Drug Delivery. *Drug Delivery and Translational Research*, **5**, 395-405.
- [33] Brown, M.B. and Jones, S.A. (2005) Hyaluronic Acid: A Unique Topical Vehicle for the Localized Delivery of Drugs to the Skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, **19**, 308-318. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2004.01180.x>
- [34] Xie, J.H. and Fan, D.D. (2019) A High-Toughness and High Cell Adhesion Polyvinyl Alcohol PVA-Hyaluronic Acid (HA)-Human-Like Collagen (HLC) Composite Hydrogel for Cartilage Repair. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, **69**, 928-937. <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1631824>
- [35] Martillo, M.A., Nazzari, L. and Crittenden, D.B. (2013) The Crystallization of Monosodium Urate. *Current Rheumatology Reports*, **16**, Article No. 400. <https://doi.org/10.1007/s11926-013-0400-9>
- [36] 秦冬儿, 颜星宇, 梁涛, 等. 加味四妙方通过调控蛋白多糖降解治疗大鼠痛风性关节炎的机制研究[J]. 中医药信息, 2023, 40(6): 1-7+22.