

• 医药生物技术 •

# 基于壳聚糖的搭载光源可溶性微针的制备与评价

刘俸溢, 庄俭\*, 薛庆隆, 许红, 黄尧, 孙靖尧, 张笑宁, 李明

北京化工大学 塑料机械及塑料工程研究所, 北京 100029

刘俸溢, 庄俭, 薛庆隆, 许红, 黄尧, 孙靖尧, 张笑宁, 李明. 基于壳聚糖的搭载光源可溶性微针的制备与评价[J]. 生物工程学报, 2024, 40(2): 562-572.

LIU Fengyi, ZHUANG Jian, XUE Qinglong, XU Hong, HUANG Yao, SUN Jingyao, ZHANG Xiaoning, LI Ming. Preparation and evaluation of chitosan-based light source-loaded soluble microneedles[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(2): 562-572.

**摘 要:** 光动力疗法与给药微针(microneedle, MN)相结合为治疗肿瘤提供了一种安全有效的途径。本文设计了一种基于壳聚糖搭载高能光子的可控缓释型载药微针贴片(LED-losartan-HEMA/CS-MN, LLH-CSMN), 重点研究了其制备工艺, 并且以氯沙坦为模型药物对微针阵列的形貌尺寸进行了表征, 探究了 LLH-CSMN 的力学性能、皮肤穿刺性能、缓释性能以及高能光子在长时间工作下的光热性能。结果表明, 基于壳聚糖搭载高能光子的微针贴片能够有效地在皮肤表面打开通道进行药物递送, 并进行光动力治疗。同时, 体外透皮扩散试验表明, 以氯沙坦为模型药物制备的微针在 1 h 内释放了约 30% 的药物, 在 1 d 内总共释放了约 60% 的药物, 随后进行缓慢释放, 在 6 d 后最终释放了 93% 的药物, LLH-CSMN 具有可控缓释特性以及良好的长效光辅助治疗效果, 为肿瘤治疗提供了一个新的安全有效途径。

**关键词:** 光动力治疗; 壳聚糖微针; 药物缓释; 肿瘤

## Preparation and evaluation of chitosan-based light source-loaded soluble microneedles

LIU Fengyi, ZHUANG Jian\*, XUE Qinglong, XU Hong, HUANG Yao, SUN Jingyao, ZHANG Xiaoning, LI Ming

Institute of Plastic Machinery and Plastic Engineering (IPME), Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** The combination of photodynamic therapy and drug delivery microneedle (MN)

资助项目: 国家自然科学基金(52003019)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52003019).

\*Corresponding author. E-mail: zhuangjian@mail.buct.edu.cn

Received: 2023-05-21; Accepted: 2023-08-15; Published online: 2023-08-16

provides a safe and effective way to treat tumors. In this paper, we designed a controlled and sustained-release drug-loaded microneedle patch (LED-losartan-HEMA/CS-MN, LLH-CSMN) based on chitosan loaded with high-energy photons, investigated its preparation process, and characterized the morphology and size of the microneedle array with losartan as the model drug. The mechanical properties of LLH-CSMN, skin puncture properties, slow release properties and the photothermal properties of high energy photons under long-term operation were investigated. The experimental results showed that the chitosan-based microneedle patch loaded with high-energy photons can effectively open channels on the skin surface for drug delivery and photodynamic therapy. At the same time, the *in vitro* percutaneous diffusion experiment showed that the microneedles prepared with losartan as the model drug released about 30% of the drug within 1 h, about 60% of the drug in total within 1 d, followed by slow release, and finally released 93% of the drug after 6 d. LLH-CSMN has controllable slow-release characteristics and good long-term photoassisted therapy effect. It provides a new safe and effective way for tumor treatment.

**Keywords:** photodynamic therapy; chitosan microneedle; drug sustained-release; tumor

微针技术因其性能优良、副作用小而受到广泛关注<sup>[1-3]</sup>。微针系统是以非侵入性方式将靶向药物输送到皮肤和其他组织的有效方法之一,是一种无痛、高效递送药物的新技术<sup>[4-6]</sup>。可溶性微针(dissolving microneedles, DMNs)是指以生物相容性好的水溶性材料为基质,将药物制备在针体内的一种给药微针。当微针针体插入皮肤或患处后,药物以短效或长效释放的方式溶解、扩散和起效<sup>[7-10]</sup>。

近几年,光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)成为了一种新型的治疗肿瘤的有效辅助方法<sup>[11]</sup>,不仅能在激光照射下通过光敏剂(photosensitizer, PS)产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)诱导肿瘤细胞坏死,还能触发肿瘤免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD),从而激活抗肿瘤免疫反应,因其对肿瘤细胞具有相对选择性、组织特异性、时空可控等优点,在肿瘤的治疗中备受关注<sup>[12-16]</sup>。PDT已被应用于多种疾病的治疗,如膀胱癌和乳腺癌<sup>[17-19]</sup>。用于治疗内部病变的节拍式光动力疗法可以实现连续的局部光传输,产生显著的抗肿瘤

作用<sup>[20]</sup>。但目前光动力治疗只能使用光动力治疗仪从人体外部给予光照,当光进入组织后会因组织的吸收和散射而衰减,其杀伤深度和范围都是有限的,并且无法对目标患处进行精准给药。这些缺陷将光动力疗法的使用范围限定在浅表肿瘤,限制了其在组织深处实体肿瘤治疗方面的大规模使用,因此需要一种多功能载药体系来克服上述缺陷,扩大该疗法的使用范围以及提高治疗效率。因此,亟待开发一种兼具皮下或者器官原位给药治疗功能的光动力便携系统。

目前制备缓释型微针的主要材料有聚乳酸、聚乙醇酸、壳聚糖(chitosan, CS)<sup>[21]</sup>等。本文提出了一种基于壳聚糖搭载高能光子的可溶性微针贴片,可以在靶向、持续地向肿瘤递送药物的同时进行光辅助治疗。以氯沙坦(losartan)为模型药物,通过两步法制备出载有氯沙坦药物的可溶性微针贴片(LED-Losartan-HEMA/CS-MN, LLH-CSMN)。同时对LLH-CSMN的形貌尺寸进行了表征,并探究了LLH-CSMN的力学性能、皮肤穿刺性能、缓释性能以及高能光子在长时间工作下的光热性能。

# 1 材料与方 法

## 1.1 材 料

壳聚糖(黏度: 50–800 mPa·s, 国药集团化学试剂有限公司); 甲基丙烯酸羟乙酯(hydroxyethyl methacrylate, HEMA)与光引发剂 1173 (成都四城新材料有限公司); 冰乙酸(acetate, ≥99.8%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 次甲基蓝(天津市致远化学试剂有限公司); 小鼠腹部皮肤(北京维通利华实验动物技术有限公司); LED 光源与无线发射线圈(长治市全利卓泰广告有限公司); 本文所使用的溶解液均为去离子水。

## 1.2 表征和设备

电热恒温干燥箱, 绍兴市上虞区沪越仪器设备厂; 电子天平, 成都倍赛克仪器仪表研究所; 压缩力测试机, 乐清市艾德堡仪器有限公司; 光学显微镜, 深圳市叁诺西努科技有限公司; 扫描电子显微镜, 日立(中国)有限公司; 智能透皮扩散仪, 天津市精拓仪器科技有限公司; 紫外可见分光光度计, 日立(中国)有限公司; 滚对平板(RTP)紫外纳米压印机, Engineering System Co., Ltd.; 脱泡搅拌机, 深圳市中毅科技有限公司; 电子万能试验机, 深圳三思检测技术有限公司; 磁力搅拌器, 杭州齐威仪器有限公司。

## 1.3 微针贴片的制备

### 1.3.1 壳聚糖溶液的制备

为了实现可溶性微针 1 周左右的持续性给药, 选择具备缓释性能的壳聚糖作为针尖的基材。由于壳聚糖能够溶解在 pH 值小于 6 的稀酸溶剂中, 所以选取稀冰乙酸作为溶剂。将一定量的壳聚糖粉末加入到 1% 的乙酸溶液中, 配制成 2% 浓度的壳聚糖溶液, 用磁力搅拌器将溶液充

分均匀混合, 直到壳聚糖完全溶解。然后将混合溶液放置在 40 °C 的烘箱中进行蒸发以去除多余的乙酸, 直到将壳聚糖溶液浓度升至 10% 左右, 得到 CS 溶液。

### 1.3.2 紫外固化材料 HEMA 溶液的制备

为了实现将 LED 光源固定在微针基底的功能, 选择在体内不可溶解且生物相容性好的紫外光固化材料 HEMA。将 0.3 g 1173 光引发剂加入到 9.7 g HEMA 溶液中, 得到含有 3% 1173 光引发剂的 HEMA 溶液。

### 1.3.3 LH-CSMN 的制备

将 100 mg CS 溶液平铺在事先翻模制备的 8×8 阵列的聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)微针模具表面, 然后将其放入脱泡搅拌机中抽真空 5 min, 使 CS 溶液充满模具针尖型腔, 让气泡浮出, 随后用刮刀将模具基底部位多余的 CS 溶液刮除, 放入干燥箱中在 36 °C 下干燥 15 min, 至针尖完全干燥。将配制好含有 3% 1173 光引发剂的 HEMA 溶液平铺在 PDMS 模具基层, 同时放入 LED 高能光子, 在 30 s 的抽真空处理后, 用滚对平板紫外纳米压印机进行紫外光固化照射 2 min, 使基底充分固化, 并将 LED 高能光子封装在基底中, 最后将微针阵列脱模, 得到搭载高能光子的壳聚糖微针阵列(LED-HEMA/CS-MN, LH-CSMN)。

### 1.3.4 LLH-CSMN 的制备

使用精密天平称取 0.2 g 氯沙坦粉末, 加入到 1.8 g 去离子水中, 配制出质量分数为 10% 的氯沙坦溶液。取出事先制备好的 5 g CS 溶液与 2 mL 氯沙坦溶液放入烧杯中充分搅拌, 得到含有 50 mg/mL 氯沙坦的 CS 混合溶液。按照前文 1.3.3 所述的方式制备 MN 阵列, 得到载有氯沙坦的微针阵列(LLH-CSMN), 制备工艺流程图如图 1 所示。

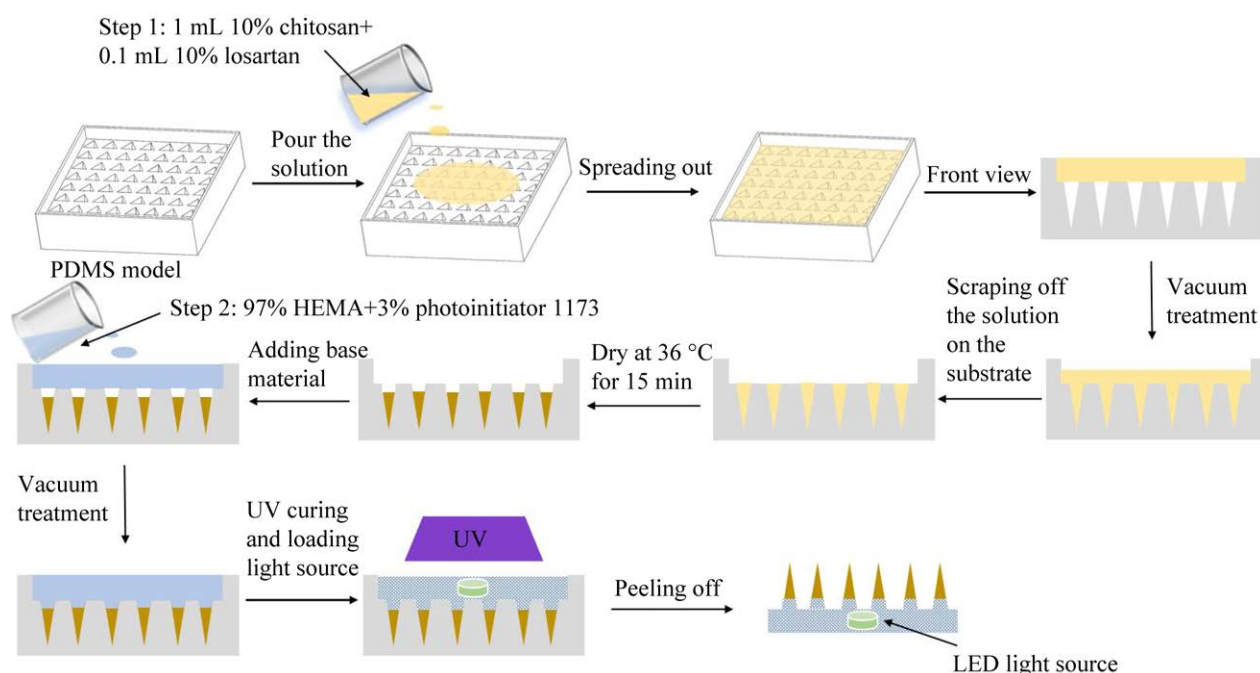


图 1 两步法制备搭载光源的可溶性微针工艺流程图

Figure 1 Process flow diagram of two-step method for preparing soluble microneedles loaded with light sources.

## 1.4 测试与表征

### 1.4.1 LLH-CSMN 的形貌尺寸表征

为了表征微针贴片的尺寸和成型效果, 将 MN 阵列裁剪成  $2 \times 2$  阵列, 先使用光学显微镜观察整体成型率, 再将微针贴片用导电胶带附着在样品台上, 在完成喷金工艺后, 再用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观测 MN 的形貌和尺寸。

### 1.4.2 力学性能测试

为了测试 LLH-CSMN 阵列是否有足够刺入肿瘤组织或皮肤的力学性能, 使用可上下移动的压力测试机进行微针力学性能的测试。用双面胶将裁剪好的  $2 \times 2$  微针贴片针尖向下粘在不锈钢传感器支架上, 调整参数使传感器以  $0.5 \text{ mm/min}$  的速度向下移动。当微针针尖接触平台时, 开始记录微针受力与位移的变化关系。试验结束后通过光学显微镜观察其弯折情况。

### 1.4.3 体外透皮性能测试

为了探究 LLH-CSMN 的透皮性能, 使用小鼠皮肤作为模型进行试验。试验过程中, 将电子万能试验机稳定设置到  $10 \text{ N}$  的压力, 将  $8 \times 8$  的 MN 阵列压在离体小鼠皮肤上,  $3 \text{ min}$  后观察其对皮肤表面的刺入情况。对皮肤表面用次甲基蓝溶液进行染色并在光学显微镜下观察小鼠皮肤。同时, 对小鼠皮肤进行冷冻组织切片, 以进一步观察其穿刺情况。

### 1.4.4 LLH-CSMN 光源产热性能的测试

为了研究 LLH-CSMN 的光源在长时间点亮的过程中是否会产生大量热, 进而对健康组织产生热损伤。使用红外温度测试仪对微针光源在长时间点亮的过程中进行温度测量, 进行光热试验以研究 LLH-CSMN 的光热性能。

### 1.4.5 LLH-CSMN 体外透皮药物释放性能测试

为了研究 LLH-CSMN 的药物缓释性能, 使

用透皮扩散仪进行体外透皮试验。将微针刺入皮肤后放置在供给室与扩散室之间,皮肤下边浸入在溶液中,外部以 37 °C 恒温水保温,搅拌转子以 300 r/min 匀速搅拌使溶液保持等温状态及渗液的浓度均匀。在此实验过程中,分别在 0.5、1、2、4、6、15、24、48、72、96、120、144 h, 每次取出 3 mL 溶液,并立即补充相应量的 PBS

缓冲液。取样完成后,使用紫外可见分光光度计测定样品中氯沙坦的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 LLH-CSMN 的形态和结构表征

图 2 为通过两步法制备的 LLH-CSMN 光学显微镜与扫描电子显微镜图。通过高精度注塑成

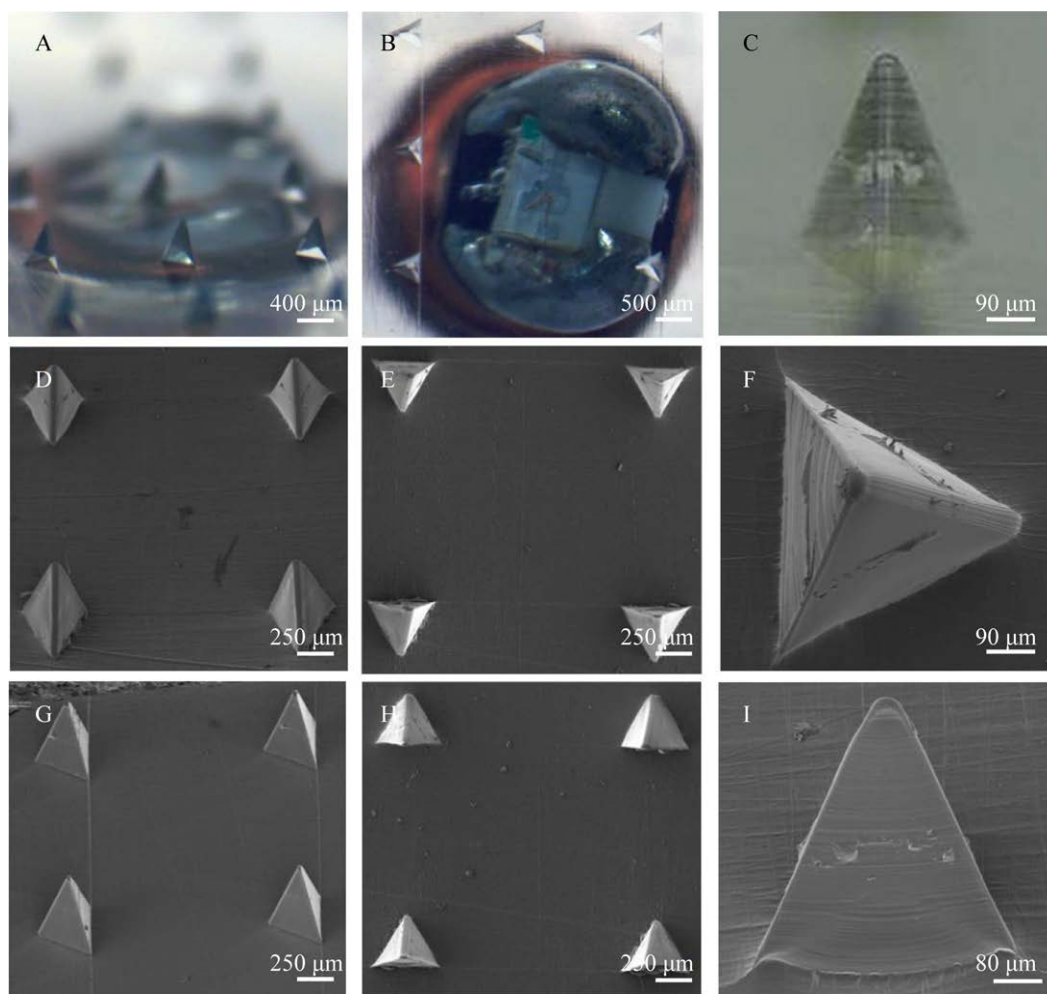


图 2 LLH-CSMN 的形貌尺寸 其中 A、B、C 分别为 MN 阵列光学显微镜三视图. D、E、F 分别为 MN 阵列三棱锥锥面向前扫描电子显微镜三视图. G、H、I 分别为 MN 阵列三棱锥平面向前的电子显微镜三视图

Figure 2 Morphological dimensions of LLH-CSMN. A, B and C are the three views of the MN array optical microscope. D, E and F are the three forward scanning electron microscopy views of the MN array triangular pyramid cone. G, H and I are the three electron microscopy views of the MN array with a triangular pyramid plane facing forward.



型得到微针母版,再通过浇铸 PDMS 翻模后得到精度为  $10\text{ }\mu\text{m}$  的微针模具。

结果显示通过先浇铸后紫外固化制备的 LLH-CSMN,针尖部分为 CS,基底部分为紫外光固化材料(97% HEMA+3% 1173 光引发剂)。基底具有良好的平整性,形态良好,并且 LED 光源能够良好地封装在其中。MN 底边边长为 $(400\pm 3)\text{ }\mu\text{m}$ ,高度为 $(480\pm 10)\text{ }\mu\text{m}$ ,针尖直径为 $(10\pm 5)\text{ }\mu\text{m}$ ,尖端角约为 $(41\pm 2)^\circ$ 。使用两步成型法制备微针的过程中,由于干燥后 CS 溶液中的水分蒸发使针尖与基底之间形成空腔,导致在基底制备的过程中未能与针尖形成有效连接,致使成型率较低。为避免这个问题,在紫外固化制备基底之前也需要进行 30 s 的抽真空处理,在针尖不会发生溶解的情况下使微量的基底材料进入针尖的型腔,在紫外固化时起到有效的连接作用,从而达到良好的成型效果。微针贴片的制备周期压缩到了 30 min 以内,微针的成型率在 95% 以上。

## 2.2 LLH-CSMN 的力学性能比较

为了使微针能够刺入相应的肿瘤组织或皮肤进行靶向给药,MN 阵列必须具有足够的力学性能。因此,通过微针压力测试器分别对 LH-CSMN 和 LLH-CSMN 进行了轴向压缩试验。图 3 显示了 2 种单根 MN 在压缩过程中力与位移的变化关系曲线,开始时 MN 的形变随着压力的增加呈连续性增大,但当位移达到  $180\text{ }\mu\text{m}$  时,针尖发生了明显的弯折变形,达到极限强度。此时 LH-CSMN 的受力达到 1.45 N,LLH-CSMN 的受力达到 1.23 N,这是由于氯沙坦药物所制备成的固体颗粒的硬度低于壳聚糖基材的硬度,当氯沙坦加入到 CS 溶液后,降低了混合溶液中壳聚糖的百分比,所以略降低了 LH-CSMN 的力学性能。但当微针的破

坏力大于  $0.24\text{ N/针}$  时,微针就可以顺利刺入皮肤而不断裂<sup>[22-23]</sup>,因此 2 种微针的受力均满足需求。

## 2.3 LLH-CSMN 的穿刺性能

为了更好地观察微针刺入皮肤后的变化,将 LLH-CSMN 微针贴片裁剪成  $8\times 8$  阵列,用电子万能试验机在离体小鼠皮肤上稳定施加 10 N 的压力,2 min 后取出微针贴片,使用次甲基蓝溶液对皮肤进行染色,图 4A 展示了微针刺入皮肤后的整体结果,而图 4B 则是局部放大的结果,可以看出微针阵列在小鼠皮肤上留下了深蓝色的微通道。在试验结束后,对小鼠皮肤进行了冷冻切片,并观察了穿刺的情况。在图 4C 中,展示了 LLH-CSMN 微针在施加轴向负载后刺入皮肤并形成微针通道的皮肤染色切片图。实验结果表明,LLH-CSMN 微针能够成功地穿透皮肤形成微针通道,其深度可达  $300\text{--}400\text{ }\mu\text{m}$ 。

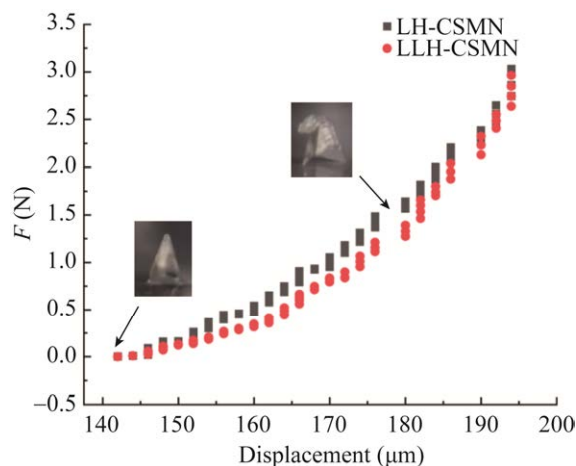


图3 单根 MN 在压缩试验中的力与位移变化曲线  
Figure 3 The force displacement curve of a single MN in compression experiments.

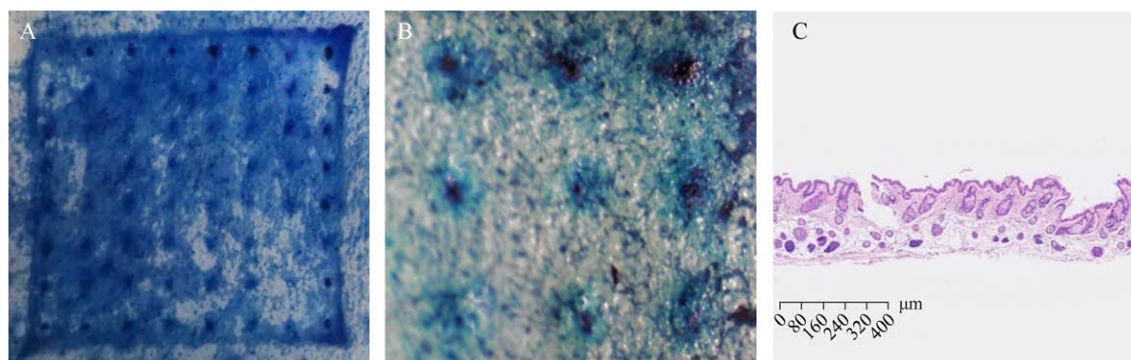


图4 皮肤刺入以及组织切片表征微针力学性能 A: 微针刺入皮肤后整体图. B: 微针刺入皮肤后的局部放大图. C: 微针刺入皮肤后的皮肤染色切片图

Figure 4 Skin puncture and tissue slice characterization of the mechanical properties of microneedles. A: Overall view. B: Enlarged view of the local area. C: Skin staining slice after microneedle penetration into the skin.

## 2.4 LLH-CSMN 光热性能

为了研究 LLH-CSMN 的光热性能, 将 LLH-CSMN 的 LED 光源通过电磁感应线圈实现无线供电并长时间点亮(图 5), 通过不同时长下 LED 光源的温度, 进而判断 LED 光源在长时间点亮的情况下会不会产生大量的热对生物体造成伤害。图 6A-6F 显示了 LED 光源温度随时间

变化的结果。LED 光源点亮 12 h 后温度从 21.6 °C 变化至 21.5 °C, 在 LED 光源持续点亮 72 h 后温度保持在  $(22.6 \pm 0.3)$  °C 不变。图 7 显示了 LED 光源温度与室温的对比图。因此, 这项研究中使用的 LED 光源可以保证在长效低功率的光辅助治疗之下不会产生较高的温度使药物失去活性, 且不会有热损伤的风险。

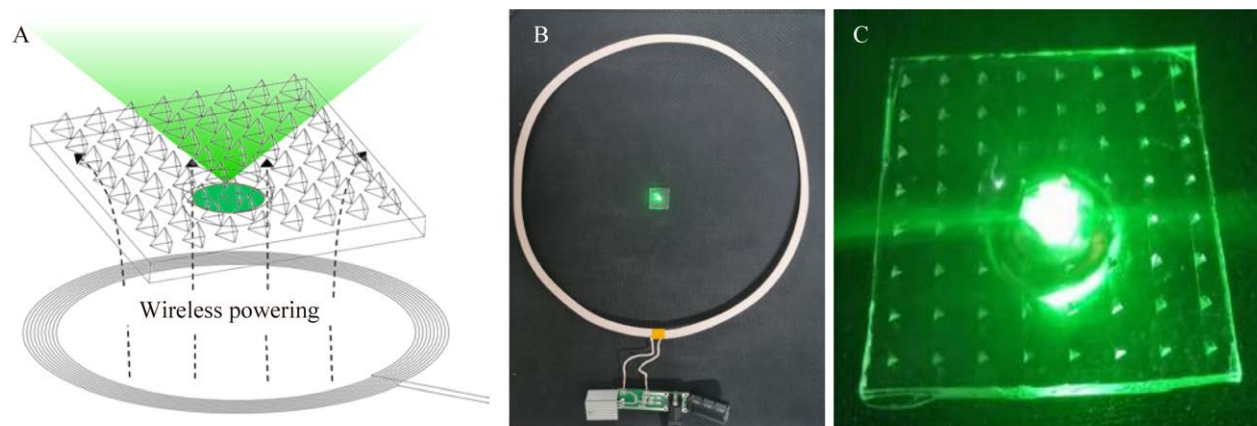


图5 无线供电系统 A: 无线供电的 LED 光源示意图. B: 无线供电系统工作图. C: LED 光源点亮时微针贴片图

Figure 5 Wireless power supply system. A: Schematic diagram of LED light source for wireless power supply. B: Working diagram of wireless power supply system. C: Microneedle patch diagram when LED light source is on.

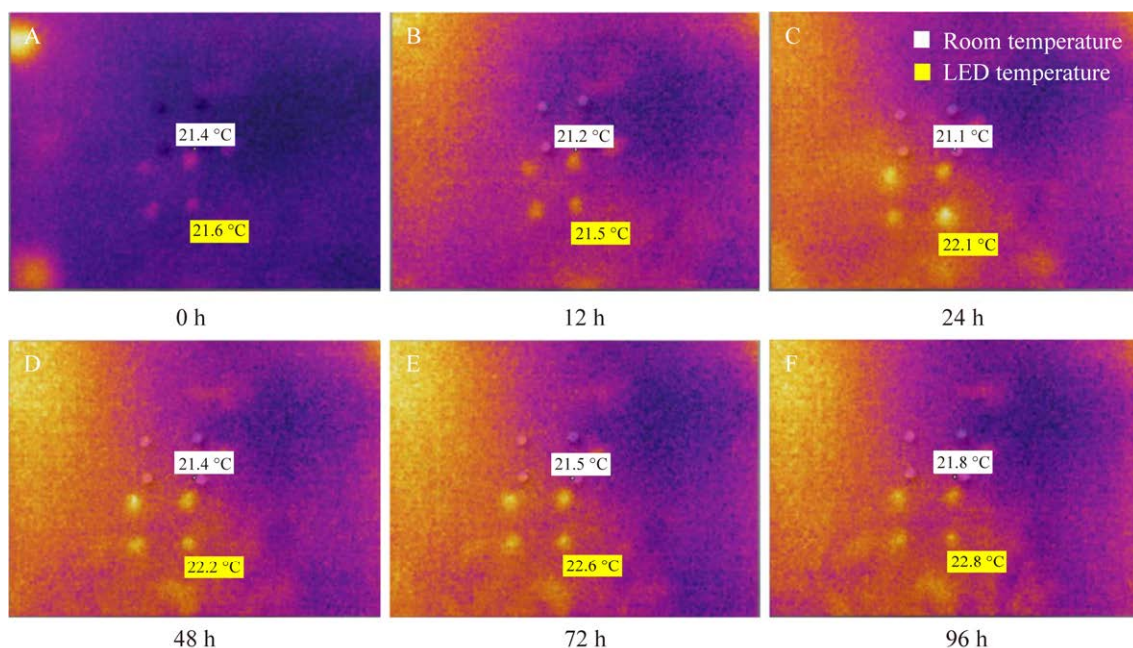


图6 LLH-CSMN 中 LED 光源长时间点亮的红外热图像 A-F 分别为 0-96 h 中室温温度与 LED 光源温度图

Figure 6 Infrared thermal image of LED light source illuminated for a long time in LLH-CSMN. A-F is the temperature map of room temperature and LED light source temperature in 0-96 h.

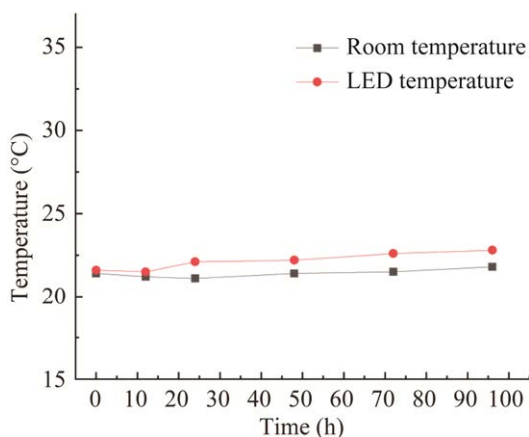


图7 LED 光源温度与室温对比图

Figure 7 Comparison between LED light source temperature and room temperature.

## 2.5 LLH-CSMN 的体外药物释放性能

为了研究 LLH-CSMN 的药物释放性能,使用透皮扩散仪进行离体透皮扩散试验。首先,需要测定氯沙坦的标准曲线。分别配制浓度为 2、

5、10、12.5、25、50  $\mu\text{g/mL}$  的氯沙坦溶液,在吸收波长 256 nm 处测定溶液的吸光度,图 8A 为各浓度下氯沙坦溶液的紫外色谱图。测得的样品浓度与吸光度关系如图 8B 所示。所示拟合得到的标准曲线如下:  $y=0.001\ 21x+0.016\ 89$ , 相关系数  $R^2=0.999\ 5$ , 呈良好的线性关系。基于波长 256 nm 处每个样品的吸收值,再计算各个样品的氯沙坦浓度。

为了探究皮肤屏障功能对药物释放的影响,进行了微针给药和表面涂抹两种方法对药物递送效率的对比实验。将 LLH-CSMN 穿刺的小鼠皮肤作为试验组,只在表面涂抹药物的小鼠皮肤作为对照组。当处于 0.5、1、2、4、6、15、24、48、72、96、120、144 h 时间节点时,分别从接收室中取出 3 mL 样品溶液,并利用紫外分光光度计进行测定,微针给药组的紫外吸收光谱如图 8C 所示。测得两种给药方式的时间与药物释放



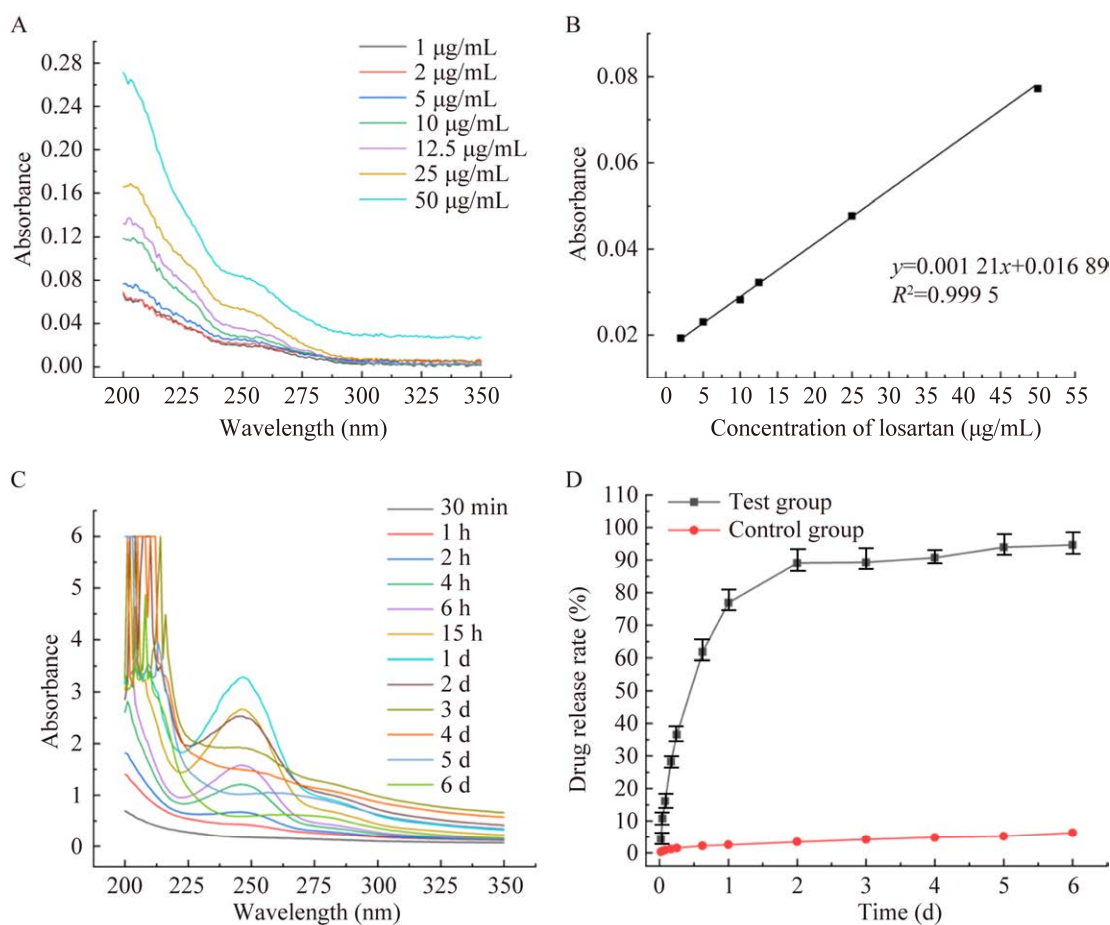


图8 LLH-CSMN的体外释药性能 A: 氯沙坦溶液的紫外色谱图. B: 氯沙坦标准曲线. C: LLH-CSMN在6 d内释放药物的紫外色谱图. D: 两种透皮方法释药性能对比

Figure 8 *In vitro* drug release performance of LLH-CSMN. A: UV chromatogram of losartan solution. B: Standard curve of losartan. C: UV chromatogram of LLH-CSMN drug release within 6 days. D: Comparison of drug release performance between two different transdermal methods.

率的关系如图8D所示,结果显示微针给药组在1 h内释放了约30%的药物,在1 d内迅速释放了约60%的药物,在2 d内释放了约90%的药物,然后随着时间的推移缓慢释放药物,最终在6 d释放了约93%的药物。表面涂抹组药物递送速度缓慢,在6 d内仅递送了约6.3%的药物。结果表明LLH-CSMN具有优良的药物递送效率,6 d内LLH-CSMN的药物递送量约为涂抹方法的15倍。微针组在试验的前2天发生暴释现象的原因可能是LLH-CSMN穿过皮肤后,MN和

浅层的氯沙坦被皮肤的间质液迅速溶解,导致氯沙坦在最初的2 d内有大量的释放。之后,随着壳聚糖基质的缓慢溶解和扩散,LLH-CSMN中的氯沙坦开始逐渐释放。

### 3 讨论与结论

光动力疗法已经成为一种新型的治疗肿瘤的有效辅助方法<sup>[11]</sup>,并被应用于多种疾病的治疗,如膀胱癌和乳腺癌<sup>[17-19]</sup>。然而,目前光动力治疗只能使用光动力治疗仪从外部给予光照,该

方法限制了其在组织深处实体肿瘤治疗方面的大规模使用,微针系统是以非侵入性方式将靶向药物输送到皮肤和其他组织的有效方法之一,是一种无痛、高效药物递送的新技术<sup>[4-6]</sup>。本研究首次使用两步成型法制备出搭载高能光子的可溶性缓释微针贴片实现光动力治疗便携化,该贴片可以深入皮下或组织器官进行长时间低剂量的光动力治疗,并且可以对目标患处实现精准靶向给药。

本文进一步研究了可溶性微针贴片成型过程的影响因素,提出了一种两步法制备搭载光源的可溶性微针成型工艺,其步骤简单、制备周期较短,成型率在 95%以上,可以将药物搭载在 MN 的尖端,LED 光源封装在 MN 的基底,同时微针贴片的成型周期缩短至 30 min 左右。

另外,提出了一种搭载光源的可溶性微针的新结构,Yamagishi 等<sup>[20]</sup>通过将光源埋植在皮下用于治疗内部病变,产生显著的抗肿瘤作用。本研究在一定程度上解决了在光动力治疗时无法对患处精准靶向给药的问题,LLH-CSMN 利用电磁感应原理使 LED 光源实现无线供电从而可以将微针贴片植入皮下肿瘤甚至更深位置的器官上,通过光源长时间点亮实现低剂量和长期的光动力治疗,与此同时可溶性微针针尖释放药物,实现靶向给药。

此外,LLH-CSMN 具有优良的力学性能与药物缓释性能。该微针贴片可以有效刺破肿瘤或皮肤组织,力学实验表明 MN 能够承受 1.23 N 的力而不发生形变或断裂。同时 LLH-CSMN 具有良好的缓释性能以及较高的靶向递送药物效率。通过体外透皮药物扩散试验表明,LLH-CSMN 在 1 d 内释放了约 60%的药物,在 2 d 内释放了约 90%的药物,然后随着时间的推移缓慢释放,最终在 6 d 释放了约 93%的药物,该释放研究结果与其他研究团队所报道结

果相近<sup>[21]</sup>。

综上所述,本文提出的具备可控缓释特性结合光辅助治疗的 LLH-CSMN 为肿瘤治疗提供了一个新的选择。

## REFERENCES

- [1] DONNELLY RF, MORROW DIJ, MCCARRON PA, DAVID WOOLFSON A, MORRISSEY A, JUZENAS P, JUZENIENE A, IANI V, MCCARTHY HO, MOAN J. Microneedle-mediated intradermal delivery of 5-aminolevulinic acid: potential for enhanced topical photodynamic therapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, 129(3): 154-162.
- [2] MOOTHANCHERY M, SEENI RZ, XU CJ, PRAMANIK M. *In vivo* studies of transdermal anoparticle delivery with microneedles using photoacoustic microscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(12): 5483-5492.
- [3] JAIN AK, LEE CH, GILL HS. 5-aminolevulinic acid coated microneedles for photodynamic therapy of skin tumors[J]. *Journal of Controlled Release*, 2016, 239: 72-81.
- [4] CHANG H, ZHENG MJ, YU XJ, THAN A, SEENI RZ, KANG RJ, TIAN JQ, KHANH DP, LIU LB, CHEN P, XU CJ. A swellable microneedle patch to rapidly extract skin interstitial fluid for timely metabolic analysis[J]. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 2017, 29(37): 1702243.
- [5] LI W, TANG J, TERRY RN, LI S, BRUNIE A, CALLAHAN RL, NOEL RK, RODRÍGUEZ CA, SCHWENDEMAN SP, PRAUSNITZ MR. Long-acting reversible contraception by effervescent microneedle patch[J]. *Science Advances*, 2019, 5(11): eaaw8145.
- [6] TANG JN, WANG JQ, HUANG K, YE YQ, SU T, QIAO L, HENSLEY MT, CARANASOS TG, ZHANG JY, GU Z, CHENG K. Cardiac cell-integrated microneedle patch for treating myocardial infarction[J]. *Science Advances*, 2018, 4(11): eaat9365.
- [7] ZHUANG J, RAO F, WU D M, HUANG Y, XU H, GAO, WX, ZHANG JR, SUN JY. Study on the fabrication and characterization of tip-loaded dissolving microneedles for transdermal drug delivery[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2020, 157: 66-73.
- [8] LIN L, WANG YQ, CAI MK, JIANG XR, HU YY, DONG ZZ, YIN DD, LIU YL, YANG SH, LIU ZG,

- ZHUANG J, XU Y, GUO CF, CHANG LQ. Multimicrochannel microneedle microporation platform for enhanced intracellular drug delivery[J]. *Advanced Functional Materials*, 2022, 32(21): 2109187.
- [9] CHEN SK, WU DM, LIU Y, HUANG Y, XU H, GAO WX, ZHANG JR, SUN JY, ZHUANG J. Optimal scaling analysis of polymeric microneedle length and its effect on transdermal insulin delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020, 56: 101547.
- [10] 黄颖聪, 马凤森, 占浩慧, 章捷. 微针阵列用于生物大分子药物的递送[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2017, 44(9): 757-768.
- HUANG YC, MA FS, ZHAN HH, ZHANG J. Microneedle array for delivery of biomacromolecule drugs[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2017, 44(9): 757-768 (in Chinese).
- [11] LI XS, KWON N, GUO T, LIU Z, YOON J. Innovative strategies for hypoxic-tumor photodynamic therapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(36): 11522-11531.
- [12] LI XS, LOVELL JF, YOON J, CHEN XY. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2020, 17(11): 657-674.
- [13] LI W, YANG J, LUO LH, JIANG MS, QIN B, YIN H, ZHU CQ, YUAN XL, ZHANG JL, LUO ZY, DU YZ, LI QP, LOU Y, QIU YQ, YOU J. Targeting photodynamic and photothermal therapy to the endoplasmic reticulum enhances immunogenic cancer cell death[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 3349.
- [14] FUCIKOVA J, SPISEK R, KROEMER G, GALLUZZI L. Calreticulin and cancer[J]. *Cell Research*, 2021, 31(1): 5-16.
- [15] MAO D, HU F, YI ZG, KENRY, XU SD, YAN SQ, LUO ZC, WU WB, WANG ZH, KONG DL, LIU XG, LIU B. AIEgen-coupled upconversion nanoparticles eradicate solid tumors through dual-mode ROS activation[J]. *Science Advances*, 2020, 6(26): eabb2712.
- [16] CHENG HB, QIAO B, LI H, CAO J, LUO YL, KOTRAIAH SWAMY KM, ZHAO J, WANG ZG, LEE JY, LIANG XJ, YOON J. Protein-activatable diarylethene monomer as a smart trigger of noninvasive control over reversible generation of singlet oxygen: a facile, switchable, theranostic strategy for photodynamic-immunotherapy[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(5): 2413-2422.
- [17] VOLGGER V, STEPHAN BETZ C. Photodynamic therapy in the upper aerodigestive tract. Overview and outlook[J]. *Journal of Biophotonics*, 2016, 9(11/12): 1302-1313.
- [18] BANERJEE SM, MACROBERT AJ, MOSSE CA, PERIERA B, BOWN SG, KESHTGAR MRS. Photodynamic therapy: inception to application in breast cancer[J]. *The Breast*, 2017, 31: 105-113.
- [19] RAILKAR R, AGARWAL PK. Photodynamic therapy in the treatment of bladder cancer: past challenges and current innovations[J]. *European Urology Focus*, 2018, 4(4): 509-511.
- [20] YAMAGISHI K, KIRINO I, TAKAHASHI I, AMANO H, TAKEOKA S, MORIMOTO Y, FUJIE T. Tissue-adhesive wirelessly powered optoelectronic device for metronomic photodynamic cancer therapy[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2019, 3(1): 27-36.
- [21] 朱龙, 庄俭, 赵泽伟, 刘俸溢, 薛庆隆, 孙靖尧, 黄尧, 许红. 基于壳聚糖的可控缓释型微针制备与性能评价[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(9): 3478-3488.
- ZHU L, ZHUANG J, ZHAO ZW, LIU FY, XUE QL, SUN JY, HUANG Y, XU H. Preparation and performance evaluation of controlled-release chitosan-based microneedles[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(9): 3478-3488 (in Chinese).
- [22] GITTARD SD, CHEN B, XU HD, OVSIANIKOV A, CHICHKOV BN, MONTEIRO-RIVIERE NA, NARAYAN RJ. The effects of geometry on skin penetration and failure of polymer microneedles[J]. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 2013, 27(3): 227-243.
- [23] ITA K. Reflections on the insertion and fracture forces of microneedles[J]. *Current Drug Delivery*, 2017, 14(3): 357-363.

(本文责编 陈宏宇)