

## 论 著

## 没食子酸改性氧化石墨烯光热治疗微针的制备与评价\*

冯怡帆 晋 唯 黎 迎\*\* 董政起\*\*

中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100193

**[摘要]** **目的** 制备一种用于治疗老年黄褐斑的抑制黑色素分泌的光热治疗微针, 并对其性能及效果进行评价。**方法** 使用没食子酸(GA)改良氧化石墨烯(GO)结构, 制备GAGO纳米复合材料; 使用紫外-可见分光光度法和傅里叶变换红外光谱验证GAGO的合成情况; 使用马尔文粒度仪检测GO、GAGO在水溶液、PBS和RPMI 1640培养基中的稳定性; 筛选壳聚糖、聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇三种基质材料并确定微成型灌注方法。使用光学显微镜和扫描电子显微镜表征其形貌; 使用Instron压缩-拉伸测试机测试微针的机械性能; 使用SD大鼠皮肤测试微针的皮肤插入性能; 通过808 nm近红外(NIR)激光器评估微针的光热转换性能; 使用B16黑色素瘤细胞中对GAGO光热治疗的体外抑制效果进行验证。**结果** GA成功负载于GO, 且具有较好的稳定性和理化性质。成功构建了GAGO-PVP微针, 其形貌表征美观, 便于浇筑与脱模, 针尖完整无气泡, 通过机械性能测试, 失效力达到3.66 N/针, 能刺穿皮肤且不引发炎症, 具备良好的光热转换性能。与对照组比较, GAGO在NIR激发时, 能够显著提高B16黑色素瘤细胞活性, 降低酪氨酸酶活性并抑制黑色素分泌, 差异均具有统计学意义( $P < 0.001$ )。**结论** GAGO NIR治疗能显著抑制B16黑色素瘤细胞活性和黑色素的分泌, GAGO-PVP微针具有应用于黄褐斑治疗的潜力。

**[关键词]** 氧化石墨烯; 没食子酸; 黄褐斑; 微针; 光热疗法

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2026.01.002

**Preparation and evaluation of gallic acid-modified graphene oxide microneedles for photothermal therapy**

Feng Yifan, Jin Wei, Li Ying\*\*, Dong Zhengqi\*\*

State Key Laboratory for Quality Assurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

\*\* Corresponding author; Li Ying, email: yli@implad.ac.cn; Dong Zhengqi, email: zqdong@implad.ac.cn

**[Abstract]** **Objective** To prepare a photothermal therapeutic microneedle for the treatment of age-related chloasma that inhibits melanin secretion, and to evaluate its performance and efficacy. **Methods** GAGO nanocomposites were prepared by modifying the graphene oxide (GO) structure with gallic acid (GA); the synthesis of GAGO was verified using UV-Vis spectrophotometry and Fourier transform infrared spectroscopy; the stability of GO and GAGO in aqueous solution, PBS and RPMI 1640 medium was detected using a Malvern particle sizer; three matrix materials, chitosan, poly-vinyl pyrrolidone (PVP), and polyvinyl alcohol, were screened and the micromolding perfusion method was determined. Their topography was characterized using light microscopy and scanning electron microscopy; mechanical properties of microneedles were tested using an Instron compression-tension tester; skin insertion properties of microneedles were tested using SD rat skin; photothermal conversion properties of microneedles were assessed by an 808 nm near-infrared (NIR) laser; and the in vitro inhibitory effect of GAGO photothermal therapy was verified using B16 melanoma cells. **Results** GA was successfully loaded on GO and had good stability and physicochemical properties. GAGO-PVP microneedles were successfully constructed, with beautiful appearance, easy pouring and demoulding, intact needle tips without bubbles, and through mechanical properties testing, the loss of efficacy reached 3.66 N/needle, which can penetrate the skin without causing inflam-

收稿日期: 2025-04-23 修回日期: 2025-05-16 录用日期: 2025-05-19

\* 中央本级重大增减支项目“名贵中药资源可持续利用能力建设项目”(2060302); 国家自然科学基金项目(82304733); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2021-I2M-1-018); 吉林省科技发展计划项目(20230401102YY)

\*\* 通信作者: 黎 迎, 电子邮箱 yli@implad.ac.cn; 董政起, 电子邮箱 zqdong@implad.ac.cn

mation, and has good photothermal conversion properties. Compared with the control group, GAGO could significantly increase the activity of B16 melanoma cells, decrease tyrosinase activity and inhibit melanin secretion during NIR challenge, and the differences were statistically significant ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** GAGO NIR treatment significantly inhibited B16 melanoma cell viability and melanin secretion, and GAGO-PVP microneedles have the potential to be applied in melasma treatment.

[**Key words**] Graphene oxide; Gallic acid; Melasma; Microneedle; Photothermal therapy

黄褐斑是皮肤科常见病、多发病及难治病, 主要成因是紫外线暴露、家族史、怀孕和使用外源性激素等, 多见于中老年女性, 外治法是黄褐斑的常用治疗手段<sup>[1]</sup>。化药外用药物种类繁多, 常用的有壬二酸、维甲酸、氨甲环酸等, 但大多有一定的副作用<sup>[2-3]</sup>。也可使用现代激光设备治疗黄褐斑, 但疗效不稳定, 病情易反复, 有加重病情的风险<sup>[4]</sup>。随着保健医学的不断发展及对损容性疾病的日渐重视, 寻找有效且副作用小的治疗药物及方法, 是目前亟需解决的问题<sup>[5]</sup>。

黄褐斑可能导致皮肤增厚, 从而影响药物分子的渗透<sup>[6]</sup>。微针透皮给药技术可在皮肤表面形成微孔, 进而提高皮肤渗透性。微针造成的损伤能够激活损伤修复机制并促进活性成分透皮吸收, 诱导皮肤结构重塑与基底膜修复, 使真皮上层的胶原重塑, 减少黑色素细胞与真皮释放的促黑色素刺激物质接触<sup>[7-8]</sup>。相较于医美市场常用的单一激光治疗而言, 微针的创口更微小、皮肤更易恢复、安全性更强、普适性更广<sup>[9-10]</sup>。

微针与光热疗法的结合因其精准性、高效性、无痛及低成本等优势受到关注。氧化石墨烯 (Graphene oxide, GO) 具有优异的光学、电学和力学特性, 在材料学、微纳加工、能源、生物医学和药物传递等方面具有重要的应用前景。GO 可以散发出 5~15  $\mu\text{m}$  远红外生命光波, 与人体的波段最为契合, 能与肌肤细胞的水分子产生最有效的“共振”使之分解, 活化肌肤细胞, 促进血液循环。然而原始的 GO 纳米片在高浓度盐和蛋白质的生理状态下易聚集并形成簇, 不具备成为药物载体的能力, 而 GO 含有大量的—OH、—COOH、C—O—C, 增加了层间距离, 削弱了层间的范德华力, 破坏了石墨烯的六方碳稳定性, 使其更易受热分解且热稳定性更差, 因此, 有必要改良 GO 结构缺陷, 构建一种具备良好稳定性和光热性能的 GO 基材料。天然多酚类化合物没食子酸 (Gallic acid, GA) 具有抗菌、抗炎、抗氧化作用和美白功能<sup>[11-12]</sup>。其分子结构包含多个—OH 和—COOH 部分, 通过氢键和  $\pi$ - $\pi$  堆叠与 GO 表面的含氧官能团形成强界面相互作用, 还可通过分子间电荷转移效应, 进一步增强 GO 光热性能, 可有效修饰 GO 结构。

可溶性微针主要由水溶性聚合物或生物可降解聚合物构成, 制备工艺与基质材料性质是可溶性微针成型的关键。本研究利用 GA 改善 GO 结构缺陷, 制备了没食子酸—氧化石墨烯 (GAGO) 光

热纳米复合材料<sup>[13]</sup>。筛选常用的微针塑型材料壳聚糖 (Chitosan, CS)、聚乙烯基吡咯烷酮 (Polyvinyl pyrrolidone, PVP)、聚乙烯醇 (Polyvinyl alcohol, PVA), 使用微成型灌注方法开发 GAGO-PVP 微针 (GAGO-PVP Microneedles, GAGO-PVP MNs), 探究其在 808 nm 红外激光联合治疗下对黑色素细胞生长及黑色素分泌的抑制作用, 以期为老年黄褐斑治疗提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、主要试剂和仪器

B16 黑色素瘤细胞购自国家实验细胞资源共享平台。GO (上海源叶生物科技有限公司, 生产批号 S25040), GA、CS、PVP、PVA (格玛奥德里奇贸易有限公司, 生产批号 G7384、D1662、V3409、P1763), RPMI 1640 培养基、胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS)、青霉素-链霉素溶液 (Penicillin-streptomycin solution, P/S) (美国 Gibco 公司, 生产批号 16010167、15070063), TritonX100 (北京索莱宝科技有限公司, 9002-93-1), 磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffered saline, PBS) (Sigma Aldrich 公司, 生产批号 P8165)。马尔文粒度仪/电位仪 (英国 Malvern Instruments 公司, 型号 Zetasizer Nano ZS), 808 nm 红外激光器 (长春镭仕光电科技有限公司, 型号 MDL-III-808), 傅里叶红外光谱仪 (美国尼高力公司, 型号 Nicolet iS10), 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司, 型号 Infinite M1000), CO<sub>2</sub> 型恒温细胞培养箱 (日本 Sanyo 公司, 型号 MCO-15AC), 红外热成像相机 (武汉高德智感科技有限公司, 型号 Guide T120), 扫描电子显微镜 (Scanning electron microscope, SEM) (德国 Bruker 公司, 型号 JEM-1200EX), 紫外-可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司, 型号 UV2450), Instron 压缩-拉伸测试机 [英斯特朗 (上海) 试验设备贸易有限公司, 型号 68TM-5]。

### 1.2 GAGO 制备

称取 GO 粉末 25 mg 溶于水中, 使用超声探头冰浴超声 1 h, 调节 pH 值至 4.75; 称取 GA 粉末 125 mg 加入 GO 溶液并使其充分溶解。磁力搅拌 24 h, 使其充分反应。为除去未反应的 GA, 使用 1 000 Da 透析袋透析 48 h, 得到 GAGO 溶液, 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下保存。

### 1.3 GAGO 表征

配制 GA、GO 和 GAGO 的水溶液, 置于比色皿中以水为对照扣除背景干扰, 使用紫外-可见分光光度法 (Ultraviolet and visible spectrophotome-

try, UV-Vis) 于 200~800 nm 波长范围内对其进行扫描。利用傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectrum, FTIR) 对 GA、GO 和 GAGO 的表面官能团特性进行分析并通过溴化钾压片收集样品, 在 400~4 000  $\text{cm}^{-1}$  范围内进行扫描。将 GO、GAGO 分散在蒸馏水、PBS (pH=7.4) 和加入了 10% (v/v) FBS 的 RPMI 1640 培养基中, 用马尔文粒度仪/电位仪观察 GO、GAGO 分散在不同介质中的粒径和分散性指数 (Polydispersity index, PDI)。

#### 1.4 基质材料选择

选择常见的微针塑型材料 CS、PVP、PVA 与所合成 GAGO 进行配比筛选。将 12 mg CS 加入 5 mL 2 wt% 的醋酸水溶液中搅拌 24 h, 取 5 mL GAGO 溶液, 将所得混合溶液的温度升高至 37  $^{\circ}\text{C}$ , 搅拌 72 h, 使 CS 与 GAGO 充分混合溶解, 在超声波浴中脱气 30 min, 制备 GAGO-CS 溶液备用。取 1 mL GAGO 溶液加入 1 000 mg/mL PVP, 搅拌约

2 h, 直至得到完全透明的 GAGO-PVP 溶液。将 47.5 mL 去离子水在 100  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热至沸腾, 加入 2.5 g PVA, 持续加热约 8 h 至完全溶解, 将 1 mL GAGO 溶液与 5%PVA 溶液充分搅拌混合, 制备 GAGO-PVA 溶液。将上述所得溶液分别倒入聚二甲基硅氧烷 (Polydimethylsiloxane, PDMS) 微针模具, 在 4 000 r/min 条件下离心, 重复倾倒离心操作 3 次, 每次离心 15 min, 在 40  $^{\circ}\text{C}$  条件下干燥 24 h 后脱模, 置于干燥器内待用。

#### 1.5 GAGO-PVP MNs 配制与筛选

制备 GAGO 质量百分比为 0.10、0.05、0.01、0 wt% 的 GAGO-PVP 溶液, 使用 1.4 所述方法制备 GAGO-PVP MNs。使用单因素考察法探究其在 3 000、4 000、5 000 r/min 条件下离心 3 次, 每次离心 5、10、15 min 的微成型条件, 用 500 倍手持显微镜评估微针的形态并计算微针的成针率, 见图 1。成针率 = (成型的针体数目/模具的针体总数目)  $\times 100\%$ 。

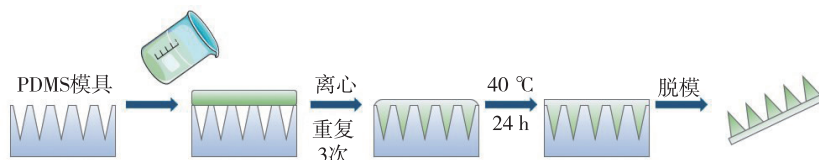


图 1 微针制备示意图

Fig. 1 Schematic diagram of microneedle preparation

#### 1.6 GAGO-PVP MNs 性能评价

**1.6.1 力学性能评价** 用 Instron 压缩—拉伸测试机测量具有不同 GAGO 质量百分比的微针贴片的机械强度。将微针放置在基板的平坦刚性表面上, 最大加载力设定为 50 kN, 不锈钢板向微针的移动速度为 300  $\mu\text{m}/\text{min}$ , 当微针断裂时, 记录失效力。

**1.6.2 皮肤可插入性评价** 使用 SD 大鼠皮肤评估 GAGO-PVP MNs 的穿透能力, 使用外科剪刀去除 SD 大鼠右后背部皮肤皮下脂肪, 切成圆形 (直径约 30 mm, 厚度约 0.9 mm), 用拇指将微针插入大鼠皮肤 2 min 后拔出, 进一步将大鼠皮肤进行固定, 对针尖所在位置的皮肤纵切面进行苏木精和伊红染色 (Hematoxylin and eosin, H&E), 观察微针穿刺程度与炎症情况。

**1.6.3 光热性能评价** 采用 808 nm 红外激光器对 0.10% GAGO-PVP MNs、0.05% GAGO-PVP MNs、0.01% GAGO-PVP MNs、0% GAGO-PVP MNs 进行近红外 (Near infrared, NIR) 照射, 设置功率密度为 1、1.5、2  $\text{W}/\text{cm}^2$ , 记录稳定后的温度数值, 通过红外热成像相机记录实时光热图像。

#### 1.7 B16 黑色素瘤细胞活性抑制

采用含 10% FBS 和 1% P/S 的 RPMI 1640 培养基培养 B16 黑色素瘤细胞, 将其分为对照组、NIR 照射组 (NIR 组)、GAGO 组、GO NIR 组和 GAGO NIR 组。以每孔  $1.0 \times 10^4$  个细胞的密度将细胞接种

到 96 孔板中, 孵育 12 h 使其贴壁。去除原有培养基, 使用不含 FBS 和 P/S 的空白培养基将 GAGO 溶液稀释 5 倍, 然后取 100  $\mu\text{L}$  加入 96 孔板, 在培养箱中孵育 24 h 后, 使用 808 nm 红外激光器照射 GO NIR 组和 GAGO NIR 组, 5 min/孔, 功率密度为 1.5  $\text{W}/\text{cm}^2$ 。后弃去原溶液, 将 CCK8 溶液加入 96 孔板中继续孵育 3 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处测量吸光度值。

#### 1.8 黑色素分泌的抑制作用

采用 L-DOPA 氧化法测定黑色素生成的关键酶—酪氨酸酶的活性, 按 1.7 中细胞活性抑制实验所述进行分组, 前 24 h 细胞培养及 NIR 照射操作均相同, 培养结束后弃去旧培养基, 使用 PBS 洗涤 2 次, 每孔加入 300  $\mu\text{L}$  含有 1% 的 TritonX100 的 PBS 溶液, 将其置于  $-80^{\circ}\text{C}$  条件下冷冻 1 h。室温完全解冻后, 加入 300  $\mu\text{L}$  1% L-Dopa 溶液, 放置 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱孵育 2 h。吸取 100  $\mu\text{L}$  样品分配到 96 孔板内, 使用酶标仪测定其在 475 nm 处的吸光度值; 使用 NaOH 裂解法检测黑色素含量, 按 1.7 中细胞活性抑制实验所述进行分组, 弃去培养瓶中的旧培养基, 使用 PBS 洗涤 2 次, 每瓶加入含有 10% 二甲基亚砜的 1M NaOH 溶液将细胞充分溶解。收集细胞溶解液于 96 孔板中, 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴 60 min, 使其充分释放出黑色素, 使用酶标仪测定其在 405 nm 处吸光度值。

### 1.9 统计学方法

使用 GraphPad Prism 9 软件进行数据分析, 正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

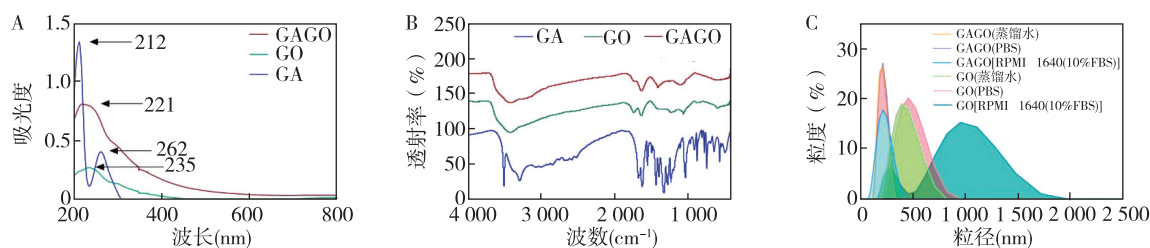
## 2 结果

### 2.1 GAGO 表征

GA、GO 和 GAGO 的 UV-Vis 吸收光谱如图 2A 所示。由于 C=C 的  $\pi-\pi$  跃迁, GO 在 235 nm 处有很强的吸收峰。GA 在 212 nm 和 262 nm 处出现两个相似的峰, 而 GAGO 的特征峰则移动至 221 nm 处。GO、GA、GAGO 的 FTIR 光谱见图 2B, GO 在 3 406.34、1 857.11、1 623.95 和 1 101.14  $\text{cm}^{-1}$  处的峰分别与 OH, C=O, C=C 和 C—O 伸缩模式有关。GA 在 1 666.12  $\text{cm}^{-1}$  处的信号指示存在—OH, 而在 1 611.08  $\text{cm}^{-1}$  处的信号被指定为 C=C 的伸缩振动。—COOH

的伸缩振动出现在 1 220.62  $\text{cm}^{-1}$  处, 1 026.66  $\text{cm}^{-1}$  处的信号归因于—COOH 的 C—O 伸缩振动。734.20  $\text{cm}^{-1}$  处的峰对应于苯环 ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ) 中  $\delta$  键的振动。GAGO 的 UV-Vis 和 FTIR 光谱显示了 GO 和 GA 的特征信号, 表明负载成功。

为研究 GAGO 的稳定性, 进一步探究了 GO 与 GAGO 在不同溶液中的粒径与 PDI 变化, 见图 2C。在水中时, GO 的粒径为  $(400.93 \pm 15.93)$  nm, PDI 为  $0.225 \pm 0.050$ ; 在 PBS 中时, 略微增加至  $(487.07 \pm 15.60)$  nm, PDI 为  $0.584 \pm 0.060$ 。在 RPMI 1640 (10% FBS) 中时变化较大, GO 的粒径增加至  $(1068.67 \pm 115.79)$  nm, PDI 为  $0.92 \pm 0.06$ 。GAGO 的粒径变化较小, 可稳定在 200 nm 左右, PDI 保持在 0.15~0.39。GAGO 在三种介质中均能稳定存在, 推测 GA 的芳香环与 GO 的  $\text{sp}^2$  碳区域通过  $\pi-\pi$  作用结合, 可增强复合材料的稳定性<sup>[14]</sup>。



注: A 为 GAGO、GA、GO 的 UV-Vis 光谱图; B 为 GAGO、GA、GO 的 FTIR 光谱图; C 为 GAGO 和 GO 在蒸馏水、PBS、RPMI 1640 (10% FBS) 中粒径比较。

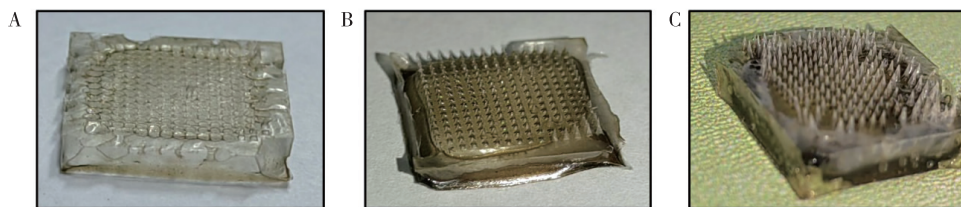
图 2 GAGO 的表征

Fig. 2 Characterization of GAGO

### 2.2 基质材料的确定

采用三次离心微浇注法合成了 GAGO-CS 微针 (GAGO-CS Microneedles, GAGO-CS MNs)、GAGO-PVP MNs、GAGO-PVA 微针 (GAGO-PVA Microneedles,

GAGO-PVA MNs), 见图 3。由于 GAGO-CS MNs 和 GAGO-PVA MNs 难以成型, 难以脱模且机械强度不够, 因此使用 GAGO-PVP 溶液进一步探究微针制备的微成型条件, 以获得形貌更美观的 GAGO-PVP MNs。



注: A 为 GAGO-CS MNs; B 为 GAGO-PVP MNs; C 为 GAGO-PVA MNs。

图 3 不同基质材料所制备微针的形貌图

Fig. 3 Morphology of microneedles prepared from different matrix materials

### 2.3 GAGO-PVP MNs 微成型条件确定

当微成型条件为 4 000 r/min, 每次离心 15 min 时, GAGO-PVP MNs 最易成型和脱模, 见表 1。因此选择在此条件下制备的 GAGO-PVP MNs 进行后续研究。

### 2.4 GAGO-PVP MNs 性能评价

通过光学图像和 SEM 图像能看到明显的微针形貌结构, 微针颜色随 GAGO 含量的增加而变深,

表 1 离心转速与时长对成针率的影响

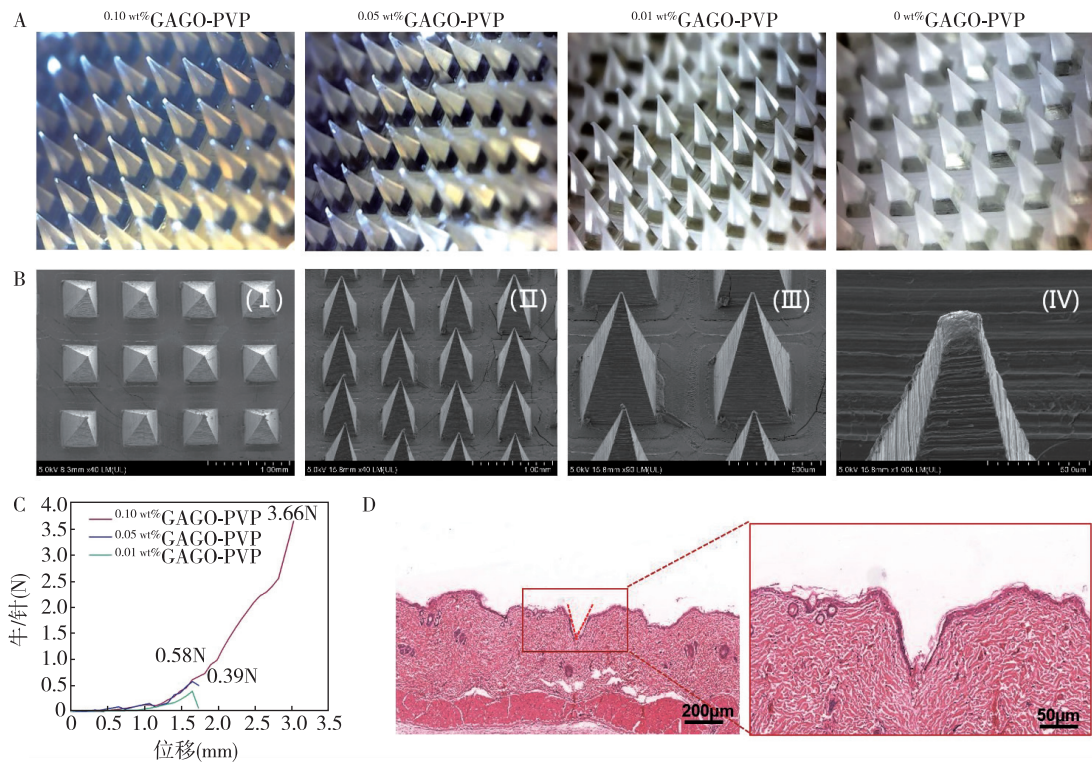
Tab. 1 Effect of centrifugal speed and duration on needle formation rate

离心转速(r/min)	离心时长(min)	成针率( $\bar{x} \pm s, \%$ )
3 000	5	81.1 $\pm$ 2.0
3 000	10	89.7 $\pm$ 5.3
3 000	15	94.3 $\pm$ 3.1
4 000	15	100.9 $\pm$ 4.8
5 000	15	97.6 $\pm$ 5.6

且不同 GAGO 含量的微针塑型效果良好, 无断裂针尖和气泡, 见图 4A~4B。当 GAGO 含量为 0.1% 时机械性能最佳, 失效力为 3.66 N/针, 且随着 GAGO 含量减少, 机械性能逐渐下降, 见图 4C。未发现大鼠皮肤有明显的炎症浸润和炎症反应, 说明 GAGO-PVP MNs 的皮肤插入性能良好, 见图 4D。

当 GAGO 含量为 0.10 wt%, 红外功率密度为

2 W/cm<sup>2</sup> 时微针中心温度为 60 °C, 随着 GAGO 含量减少与照射功率的降低, 温度均随之降低, 当 GAGO 含量为 0.10 wt%, 功率密度为 1.5 W/cm<sup>2</sup> 时, 温度达到 50°C 左右, 符合光热治疗所需温度, 见图 5。综上所述, 选择 1.5 W/cm<sup>2</sup> 下 0.10 wt% GAGO-PVP MNs 作为下一步的研究对象。



注: A 为 500×光学显微镜下不同含量 GAGO 的 GAGO-PVP MNs 形貌图; B 为 GAGO-PVP MNs 的 SEM 图像; C 为不同含量 GAGO 对微针机械强度的影响; D 为大鼠皮肤 H&E 染色图。

图 4 GAGO-PVP MNs 的表征  
Fig. 4 Characterization of GAGO-PVP MNs

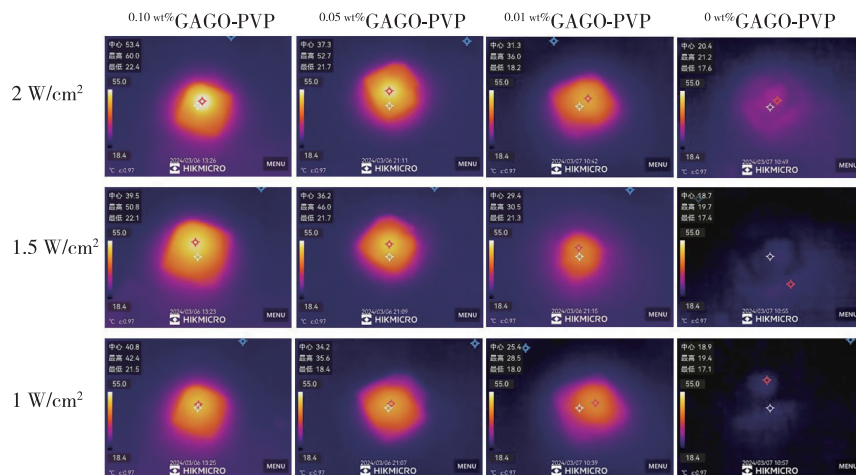
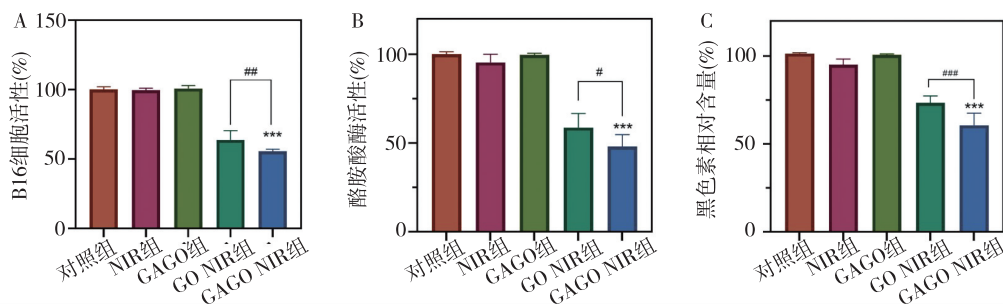


图 5 NIR 照射下的微针红外热成像图  
Fig. 5 Infrared thermography of microneedles under NIR irradiation

## 2.5 微针对 B16 黑色素瘤细胞活性及黑色素分泌的抑制作用

GAGO NIR 组的 B16 黑色素瘤细胞存活率为  $(55.6 \pm 1.4)\%$ , 与对照组  $(100.0 \pm 1.8)\%$  比较显著降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 与 GO NIR 组  $(63.8 \pm 6.0)\%$  比较明显降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见图 6A。GAGO NIR 组的酶活性为  $(48.0 \pm 6.0)\%$ , 与对照组  $(100.0 \pm$

$1.3)\%$  比较显著降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 与 GO NIR 组  $(58.8 \pm 7.0)\%$  比较有所降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 6B。GAGO NIR 组的黑色素相对含量为  $(60.6 \pm 6.2)\%$ , 与对照组  $(101.4 \pm 0.5)\%$  比较显著降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 与 GO NIR 组  $(73.4 \pm 3.5)\%$  比较显著降低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 见图 6C。



注: GAGO NIR 组与对照组比较 \*\*\*  $P < 0.001$ ; GO NIR 组与 GAGO NIR 组比较 #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , ###  $P < 0.001$ 。

图 6 GAGO 和 GAGO NIR 对 B16 黑色素瘤细胞的毒性

Fig. 6 Cytotoxicity of GAGO and GAGO NIR on B16 melanoma cells

## 3 讨论

黄褐斑的治疗目的在于抑制黑色素细胞活性, 使黑色素的合成及转运减少, 同时促进黑色素的降解破坏。当皮肤受到刺激与损伤, 单纯光疗通过选择性光热原理, 选择吸收能量, 瞬间产生爆破效应, 变成色素粉尘, 或随皮屑排出体外, 或随淋巴循环、血液循环被逐渐运走, 达到祛除色素的疗效<sup>[15-16]</sup>。使用 GO 基纳米材料作为微针与光热联合治疗的基质材料, 同时实现了激光对黑色素的直接与间接降解, 并利用微针阵列来改进皮肤的通透性, 使微针在皮肤角质层产生微小孔道来增加药物的经皮吸收。微针给药兼有传统注射给药和透皮给药的双重优点, 显著提高药物, 特别是大分子类药物的透皮速率和吸收量<sup>[17-19]</sup>。

本研究成功构建了 GAGO-PVP MNs, 其形貌表征美观, 便于浇筑与脱模, 针尖完整无气泡, 通过机械性能测试, 机械强度达到 3.66 N/针, 能成功刺穿皮肤并且不引发炎症, 并验证了 GAGO 作为光热纳米材料在微针中的良好光热性能, 证实其在 NIR 功率密度为  $1.5 \text{ W/cm}^2$ , GAGO 含量为 0.1 wt% 的条件下时温度可达到  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  左右, 为 GAGO-PVP MNs 进行光热治疗提供实验支撑和依据, 且证实了 GAGO 在光热治疗下对黑色素细胞的活性和黑色素分泌抑制效果。

此外, 中老年人群因其自身的体质原因, 容易出现体瘀现象。石墨烯材料本身具备的远红外线渗透力强, 可达肌肉关节的深处, 温暖身体内部, 舒缓肌肉, 带动周围微血管氧气和养分的交换, 排除老化废物。对于易瘀体质患者, 活血化

瘀效果较好<sup>[20-22]</sup>。因此, GAGO-PVP MNs 展现出优异的黄褐斑治疗潜力, 具有重要的临床应用价值, 可深入开展药效及机制研究和临床转化探索。

## 参考文献

- [1] Wang T, Gao H, Wang D, et al. Stem cell-derived exosomes in the treatment of melasma and its percutaneous penetration[J]. *Lasers Surg Med*, 2023, 55(2):178-189.
- [2] Feng X, Su H, Xie J. The efficacy and safety of microneedling with topical tranexamic acid for melasma treatment: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2024, 23(1):33-43.
- [3] Nautiyal A, Wairkar S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies[J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2021, 34(6):1000-1014.
- [4] Neagu N, Conforti C, Agozzino M, et al. Melasma treatment: a systematic review [J]. *J Dermatolog Treat*, 2022, 33(4):1816-1837.
- [5] 高美艳, 高妮, 高琳. 基于黄褐斑病理改变的药物及光电医美临床治疗新选择[J]. *皮肤科学通报*, 2023, 40(6):649-655.  
Gao M Y, Gao N, Gao L. New treatment options of drugs and photoelectric technology based on pathological changes of melasma[J]. *Dermatology Bulletin*, 2023, 40(6):649-655.
- [6] 杨蓉娅, 孟琼, 香毅源. 微针疗法治疗黄褐斑专家共识[J]. *实用皮肤病学杂志*, 2024, 17(4):192,193-197.  
Yang R Y, Meng Q, Xiang Y Y. The expert consensus on microneedling therapy for melasma[J]. *Pract Derma-*

- tol, 2024, 17(4): 192,193–197.
- [7] Yan C, Xing M, Zhang S, et al. Clinical development and evaluation of a multi-component dissolving microneedle patch for skin pigmentation disorders [J]. *Polymers (Basel)*, 2023, 15(15): 3296.
- [8] 方芳, 伍云, 赵雁, 等. 755nm 皮秒激光联合纳晶微针导入氨甲环酸治疗黄褐斑的疗效观察 [J]. *中国医疗美容*, 2024, 14(5): 44–47.  
Fang F, Wu Y, Zhao Y, et al. Clinical observation of melasma treated by 755nm picosecond laser combination with nano microneedle leading-in tranexamic acid [J]. *China Med Cosmetol*, 2024, 14(5): 44–47.
- [9] Bonati L M, Epstein G K, Strugar T L. Microneedling in all skin types: a review [J]. *J Drugs Dermatol*, 2017, 16(4): 308–313.
- [10] Ghandehari R, Robati R M, Niknezhad N, et al. Efficacy and safety of fractional CO<sub>2</sub> laser and tranexamic acid versus microneedling and tranexamic acid in the treatment of infraorbital hyperpigmentation [J]. *J Dermatolog Treat*, 2022, 33(3): 1391–1396.
- [11] Khan B A, Mahmood T, Mena F, et al. New perspectives on the efficacy of gallic acid in cosmetics & nanocosmeceuticals [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(43): 5181–5187.
- [12] 黄海潮, 郑公铭, 张小红, 等. 龙眼果核中没食子酸的体外美白作用及机制探索 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(19): 121–124.  
Huang H C, Zheng G M, Zhang X H, et al. In vitro whitening effect and mechanism of gallic acid from dimocarpus longan stone [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2015, 21(19): 121–124.
- [13] Yunus M A, Ramli M M, Osman N H, et al. Stimulation of innate and adaptive immune cells with graphene oxide and reduced graphene oxide affect cancer progression [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2021, 69(1): 20.
- [14] Hou X, Zhang L, Chen Y, et al. Photothermal switch by gallic acid-calcium grafts synthesized by coordination chemistry for sequential treatment of bone tumor and regeneration [J]. *Biomaterials*, 2025, 312: 122724.
- [15] Sawant O, Khan T. Management of periorbital hyperpigmentation: an overview of nature-based agents and alternative approaches [J]. *Dermatol Ther*, 2020, 33(4): e13717.
- [16] 李丽颖. 负载氨甲环酸光敏控释微粒的制备及其对 B16F10 细胞黑色素生成的抑制作用研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2024.  
Li L Y. Preparation of tranexamic acid-loaded photosensitive controlled-release particles and their inhibitory effect on melanogenesis in B16F10 cells [D]. Qingdao: Qingdao University, 2024.
- [17] Olugbade I D, Negbenebor N A. The use of tranexamic acid and microneedling in the treatment of melasma: a systematic review [J]. *Cutis*, 2024, 114(2): E15–E23.
- [18] Jiang Z, Xu H, Wang H, et al. Microneedles-mediated calcium-ion-modulated nanoamplifier for potentiating photodynamic therapy via specific-tuning assembly and tumor microenvironment remold [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 177: 117063.
- [19] 周小琴, 施孟琴. 强脉冲光联合微针导入丹参注射液治疗黄褐斑的疗效分析 [J]. *现代医药卫生*, 2022, 38(22): 3911–3914.  
Zhou X Q, Shi M Q. Analysis of the efficacy of intense pulsed light combined with microneedle introduction of Danshen injection in the treatment of chloasma [J]. *J Mod Med Health*, 2022, 38(22): 3911–3914.
- [20] Cao L, Li Z, Su K, et al. Hydrophilic graphene preparation from gallic acid modified graphene oxide in magnesium self-propagating high temperature synthesis process [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35184.
- [21] Zeng H, Ying Z R, Luo X, et al. Gallic acid-modified bioglass with combined photothermal and antibacterial effects for the regeneration of infected diabetic wound [J]. *Composites, Part B. Engineering*, 2023, 257: 110668.
- [22] Suhaili S, Nurhuda E, Seri E S, et al. Gallic acid loaded graphene oxide based nanoformulation (GAGO) as potential anti-bacterial agent against staphylococcus aureus [J]. *Materials Today: Proceedings*, 2018, 5: S160–S165.