

# 微流控法制备 PLGA 微球及其性能研究

陈红,徐菊美,赵世成\*,岑莲\*

(华东理工大学化工学院,上海 200237)

**摘要:**利用自行设计和制造的微流控两相和三相装置实现对聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 微球的可控制备,并对其性能进行研究,调控微流控操作参数,制备 PLGA 微球,并以传统乳化/溶剂挥发法作对照同时制备 PLGA 微球,对所得微球的形貌及粒径进行分析。结果表明,乳化/溶剂挥发法得到的微球分散性差,大小不均一,离散系数(coefficient of variation, CV)为 44.13%,而微流控法得到的微球分散性极好,大小均一,且 CV 仅为 2.73% (两相)和 1.93% (三相),说明微流控法能够制备单分散性很高的 PLGA 微球,有着乳化/溶剂挥发法无法比拟的优势。

**关键词:** PLGA; 微球; 微流控法; 可控制备; 离散系数

中图分类号: TQ460.4

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)01-0129-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.01.030

## Preparation and characterization of PLGA microspheres by microfluidics method

CHEN Hong, XU Ju-mei, ZHAO Shi-cheng\*, CEN Lian\*

(School of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** The controllable preparation of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres is achieved by self-designed and self-made two-fluid-channel device and three-fluid-channel microfluidics device. The performance of PLGA microspheres is studied. The microfluidics parameters are adjusting and varying in the preparation process. PLGA microspheres are also prepared by traditional emulsion/solvent evaporation method, and are taken as a reference. Morphology and size distribution of the PLGA microspheres prepared by both methods are investigated. It is shown that PLGA microspheres prepared by emulsion/solvent evaporation method has serious aggregation and a wide size distribution with a coefficient of variation (CV) being 44.13%, whereas those prepared by two-fluid-channel microfluidics device and three-fluid-channel microfluidics device both have good dispersive performance, narrow size distribution, and CV of 2.73% (two-fluid-channel device) and 1.93% (three-fluid-channel device), respectively. It indicates that using microfluidics can manufacture highly mono-dispersive PLGA microspheres without aggregation. Hence, it is possible to achieve the precise control over the preparation of PLGA microspheres.

**Key words:** PLGA; microspheres; microfluidics; controllable preparation; coefficient of variation

微球是指利用天然的或合成的高分子材料(如明胶、壳聚糖、聚乳酸等)将功能性分子和药物分子包裹起来的微型容器<sup>[1]</sup>。在药物传递体系的应用研究中,安全无毒、可生物降解、生物相容性好的有机高分子材料受到普遍重视并得以广泛的应用<sup>[2]</sup>。聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA] 是由 2 种单体-乳酸和羟基乙酸随即聚合而成的 1 种可降解高分子化合物,具有良好的生物相容性以及成囊、成膜性能,被广泛应用于生物医用工程、制药及现代化工业领域中<sup>[3]</sup>。PLGA 在体内最终降解为 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub>, 对人体安全无毒,在反复给药后随人体代谢,体内无蓄积现象,是一种很好的药物传递载体。

目前,PLGA 微球的制备方法主要有乳化/溶剂挥发法<sup>[4-5]</sup>、喷雾干燥法<sup>[6]</sup>、超临界 CO<sub>2</sub> 法<sup>[7]</sup>以及微流控法<sup>[8-11]</sup>等,制备方法的不同导致制备得到的载药微球的性能存在差异,包括形貌、结构、载药性能

以及药物释放性能等,而这些性能的差异决定着所得微球是否能够有效地实现药物的缓释和控释,所以对微球制备方法的选择至关重要。微流控技术是近年来发展的一种操控微体积液体的新技术<sup>[12]</sup>,该方法的基本原理是在微米尺度内的微通道里,互不相容的流体经过流动的剪切力和流体表面张力的相互作用,最终被分割成离散的微米级乳液液滴。微流控技术可以连续、可控地制备出高度单分散的微液滴,并且能够对微液滴结构进行精确调控,包括乳液液滴的尺寸、组分、内外液层的厚度等<sup>[13-15]</sup>。因此,笔者对乳化/溶剂挥发法和微流控法制备 PLGA 微球进行分析比较,并对其降解性能进行了研究,从而为其作为药物释放载体提供实验基础。

## 1 原料与方法

### 1.1 仪器与试剂

PLGA(100 g PDLG 5010), Corbion Purac 公司

收稿日期:2017-06-20

作者简介:陈红(1992-),女,硕士,研究方向为生物医用材料,1252327912@qq.com;赵世成(1978-),男,博士,副教授,研究方向为高分子成型和加工,通讯联系人,zhaosc@ecust.edu.cn;岑莲(1978-),女,博士,教授,研究方向为生物材料化学工程,通讯联系人,lianen@ecust.edu.cn。

生产;聚乙烯醇(polyvinyl alcohol, PVA), 美国 Sigma 公司生产;二氯甲烷, 分析纯, 国药集团生产;PBS 缓冲液, 美国 Sigma 公司生产;去离子水, 华东理工大学生产。

T25 型均质机, 德国 IKA 公司生产;LSP01-1A 和 TS2-60 型微量注射泵, Longer Pump 公司生产;P-97 型拉管仪, Sutter 公司生产;Nova Nano SEM 450 型场发射扫描电镜, FEI 公司生产。

## 1.2 乳化/溶剂挥发法制备 PLGA 微球

取 PVA 粉末于蒸馏水中, 配制成质量分数为 2% PVA 水溶液(连续相)。取一定量的 PLGA 于二氯甲烷中, 配制成质量分数为 0.6% 的 PLGA 溶液(分散相)。分散相与连续相的体积比为 1:10, 另配制质量分数为 0.5% PVA 水溶液为乳液稳定相, 体积为乳液体积的 3 倍。取一定体积的分散相, 均质机高速搅拌下(10 000 r/min)逐滴加入连续相中, 均质 2 min。随后立即转入稳定相, 持续搅拌 24 h (250 r/min), 使二氯甲烷挥发完全, 制得微球颗粒的水分散体系。然后离心(5 000 r/min)和蒸馏水清洗 3 次, 除去残留 PVA, 冷冻干燥即得 PLGA 微球。

## 1.3 微流控两相装置制备 PLGA 微球

微流控两相装置的设计及制备: 采用玻璃毛细管制备微流控装置微通道。首先, 将玻璃方形管(2~3 cm)固定到载玻片上;再将圆形玻璃毛细管用拉管仪制成 2 段, 拉制后的毛细管均有一端直径为 10  $\mu\text{m}$  的锥形口, 然后用砂纸将其中 1 个锥形口磨成装置内相管口直径( $D_o$ )为 50~250  $\mu\text{m}$ , 另 1 个磨成前 1 个管径大小的 2~3 倍。锥形管口确保磨平并吹净。将磨好吹净的毛细管分别从已固定好的方形管左右两端插入, 两管管口距离约为较小的管口直径的一半(约为 50~100  $\mu\text{m}$ ), 各管水平中心线对齐后固定。将 2 个点胶针头塑料端两侧切出 2 个凹槽, 使其恰好可以嵌入方形管和圆管的入口端, 最后固定针头并封住剩下的一个管口, 胶水凝固后即可得装置。

PLGA 微球的制备: 配制质量分数为 2% PVA 水溶液作外相溶液, 0.6% 的 PLGA 溶液作内相溶液。分别用注射器吸取一定量内外相溶液, 用 PE 管接到注射器上, 分别固定在 2 台微量注射泵, 将 PLGA 溶液和 PVA 溶液分别连接至微流控装置的内相和外相, 设置微量注射泵参数, 即内外相流量  $Q_i$  和  $Q_o$  分别为 1 mL/h 和 2 mL/h。快冲排气后, 启动微量注射泵, 即可在通道内形成 O/W 微球液滴, 配制质量分数为 0.5% PVA 水溶液收集微球。收集

完毕后, 250 r/min 磁力搅拌 24 h, 以挥发溶剂。然后离心(5 000 r/min)和水洗 3 次, 除去残留 PVA 后, 冷冻干燥即得 PLGA 微球。

## 1.4 微流控三相装置制备 PLGA 微球

微流控两相装置的设计及制备: 三相装置的毛细管设计与 1.3 所述方法类似。为能得到稳定的 W/O/W 乳液液滴, 将  $D_o$  固定为 100  $\mu\text{m}$  左右, 另一个磨成前 1 个管径大小的 3 倍。且两相装置中用 AB 胶封住的通道管口将作为制备 PLGA 微球的外水相流体入口, 与其他 2 个管口一样, 用点胶针头嵌入方形管和圆管的入口端并固定。胶水凝固后即可得三相装置。

PLGA 微球的制备: 分别配制质量分数为 1% PVA 水溶液(内水相, innermost phase,  $Q_i$ )、2% PVA 水溶液(外水相, outermost phase,  $Q_o$ )和 0.6% PLGA 溶液(油相, middle oil phase,  $Q_m$ ) (配制方法同 1.3)。分别用注射器吸取后, 固定于 3 台微量注射泵上, 并连接到相对应的装置上。其中, 内水相和油相溶液同向流入微流控装置, 而外水相溶液反方向流入通道内。设置微量注射泵参数, 即  $Q_i$ ,  $Q_m$  和  $Q_o$  分别为 1、2 mL/h 和 4 mL/h。排气后, 启动微量注射泵, 即可在通道内形成 W/O/W 型 PLGA 微球液滴, 配制质量分数为 0.5% PVA 水溶液收集微球。收集完毕后, 250 r/min 磁力搅拌 24 h, 以挥发溶剂。然后通过反复离心(5 000 r/min)和蒸馏水清洗 3 次, 除去残留 PVA 后, 冷冻干燥即得 PLGA 微球。

## 1.5 分析与测试方法

### 1.5.1 扫描电镜

将适量所得 PLGA 微球样品置于扫描电镜托的导电胶上, 喷金处理后, 利用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察微球形貌。比较通过微流控法和乳化/溶剂挥发法所制备的微球表面形貌。

### 1.5.2 粒径分析

根据所得 SEM 图并在图中选取不少于 300 个的 PLGA 微球, 利用 Nano Measurer 软件进行粒径分析, 再用 Origin 软件做出粒径分布柱状图。比较微流控法和乳化/溶剂挥发法制备的微球粒径分布情况, 计算微球的离散系数(coefficient of variation, CV)。

## 2 结果

### 2.1 乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的形貌分析

乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的 SEM 图

如图 1 所示。由图 1 可以看出,微球表面光滑无孔,微球之间出现聚集现象,一些微球聚集后不在同一平面内。从图 1(b)和图 1(c)可以看到,微球大小不均匀,差异很大。

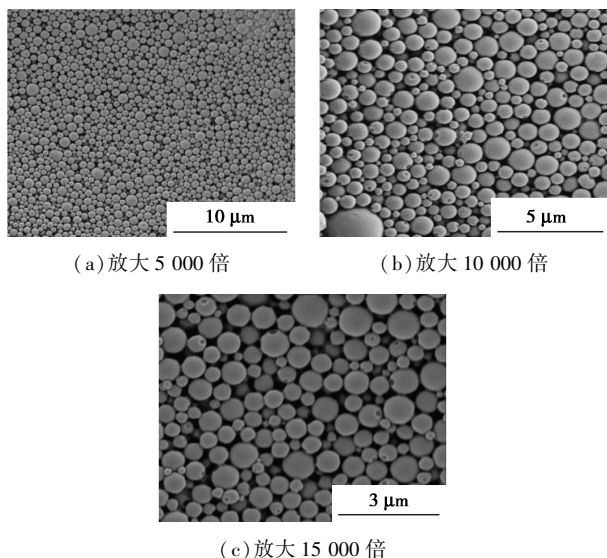
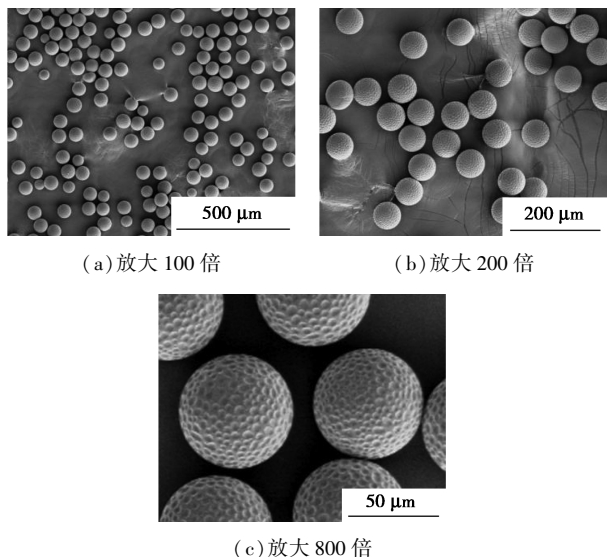


图 1 乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的 SEM 图

## 2.2 微流控两相装置制备的 PLGA 微球的形貌分析

微流控法所制备的 PLGA 微球的 SEM 图如图 2 所示。由图 2 可以看出,微球球形结构良好,颗粒间无粘连,无聚集,分散性好,微球大小均匀。从图 2(c)中可以看出,微球表面无孔,且存在许多小的圆形凹槽。



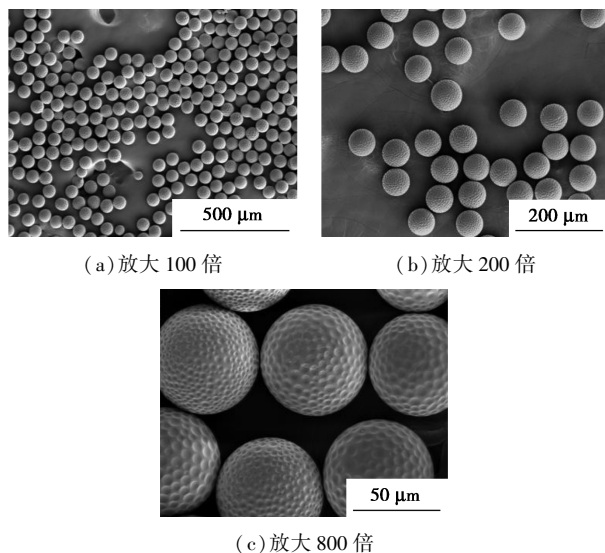
注:微流控操作参数: $D_o = 191 \mu\text{m}$ ,  $Q_i = 1 \text{ mL/h}$ ,  $Q_o = 2 \text{ mL/h}$ 。

图 2 微流控法制备的 PLGA 微球的 SEM 图

## 2.3 微流控三相装置制备的 PLGA 微球的形貌分析

微流控三相装置制备的 PLGA 微球的 SEM 图

如图 3 所示。从图 3 可以看出,三相装置制备的 PLGA 微球大小均匀,分散性好,颗粒间无粘连,球形圆整度极好。从图 3(c)可以看到,微球表面无孔,但有许多较为规则的圆形小凹槽,此现象与两相装置制备的 PLGA 微球表面相同。



注:微流控操作参数为: $D_o = 130 \mu\text{m}$ ,  $Q_i = 1 \text{ mL/h}$ ,  $Q_m = 2 \text{ mL/h}$ ,  $Q_o = 4 \text{ mL/h}$ 。

图 3 微流控三相装置制备的 PLGA 微球的 SEM 图

## 2.4 乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的粒径分析

乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的粒径分布图如表 1 所示。从表 1 中可以看出,微球粒度分布广,根据数据统计,微球的  $D_p$  为 563.24 nm,粒径分布范围为 130.82 ~ 2 296.51 nm (由于粒径为 2 296.51 nm 左右的大微球只有少数一两颗,故未放入粒径分布图中)。其中粒径主要分布在 200 ~ 800 nm 内,占 83.6%。其中又以 300 ~ 400、400 ~ 500、500 ~ 600、600 ~ 700 nm 这几个区间内所占比例居多,分别为 18.4%、13.8%、15.8%、17.1%,而在 200 ~ 300、700 ~ 800 nm 区间也几乎各占 10%。计算得该组微球粒径的 CV 为 44.13%,表明微球离散程度很大。

表 1 乳化/溶剂挥发法制备的 PLGA 微球的粒径分布表

粒径范围/nm	所占比例/%	粒径范围/nm	所占比例/%
100~200	3.3	700~800	9.6
200~300	8.9	800~900	5.3
300~400	18.4	900~1000	3.7
400~500	13.8	1000~1100	2.5
500~600	15.8	1100~1200	1.1
600~700	17.1	1200~1300	0.5

## 2.5 微流控两相装置制备的 PLGA 微球的粒径分析

微流控两相装置制备的 PLGA 微球的粒径分布图如表 2 所示。由表 2 中可以看出,  $D_p$  为 60.66  $\mu\text{m}$ , 粒径大小在 53.16~64.78  $\mu\text{m}$  范围内, 其中, 在 56.48~64.78  $\mu\text{m}$  之间的微球占 97.2%, 58.14~64.78  $\mu\text{m}$  占 93.2%, 58.14~63.15  $\mu\text{m}$  占 87.6%。计算得到的 CV 值为 2.73%, 说明微流控法制备的 PLGA 微球粒径的离散程度很小, 粒径分布均匀。乳化/溶剂挥发法得到的 CV 值(44.13%)是其 16.16 倍, 离散程度远远小于乳化法, 充分证明微流控方法的优势。

表 2 微流控法制备的 PLGA 微球的粒径分布表

粒径范围/nm	50~55	55~69	60~65
所占比例/%	3.3	8.9	18.4

注:微流控操作参数为: $D_0 = 191 \mu\text{m}$ ,  $Q_i = 1 \text{ mL/h}$ ,  $Q_o = 2 \text{ mL/h}$ 。

## 2.6 微流控三相装置制备的 PLGA 微球的粒径分析

微流控三相装置制备的 PLGA 微球的粒径分布图如表 3 所示。由表 3 可以看出,  $D_p$  为 62.41  $\mu\text{m}$ , 粒径大小在 51.16~69.77  $\mu\text{m}$  范围内, 其中, 在 56.98~67.44  $\mu\text{m}$  之间的微球占 98.2%, 59.30~67.44  $\mu\text{m}$  之间的微球占 94%, 59.30~65.12  $\mu\text{m}$  之间的微球占 89.4%。计算得到的 CV 为 1.93%, 与两相装置制备得到的微球 CV 值相当, 说明微流控三相装置制备 PLGA 微球的方法制得的微球粒径的离散程度很小, 粒径分布均匀。

表 3 微流控三相装置制备的 PLGA 微球的粒径分布表

粒径范围/nm	51~57	57~63	63~69	69~75
所占比例/%	1.0	43.5	54.7	0.8

注:微流控操作参数为: $D_0 = 130 \mu\text{m}$ ,  $Q_i = 1 \text{ mL/h}$ ,  $Q_m = 2 \text{ mL/h}$ ,  $Q_o = 4 \text{ mL/h}$ 。

## 3 结论

PLGA 微球良好的生物性能常被用作药物缓释载体材料, 而微球的形貌、粒径、分散性、结构等对其性能有密切影响, 因而 PLGA 微球的制备方法至关重要。分别用乳化/溶剂挥发法和微流控法制备 PLGA 微球, 用 SEM 观察微球, 并进行形貌和粒径分析, 结果表明, 微流控制备的 PLGA 微球的形貌、分散性及均一性等性能明显优于乳化/溶剂挥发法。微流控法制备的 PLGA 微球的离散程度远远低于乳化/溶剂挥发法。乳化/溶剂挥发法制备的微球 CV

值为 44.13%, 而两相和三相微流控装置制备的微球 CV 值分别为 2.73% 和 1.93%, 分别约为前者的 1/16 和 1/22。证实利用微流控法制备 PLGA 微球, 可以实现高度单分散, 微球粒径可以根据应用要求进行调控, 最终实现微球的可控制备, 这是其他方法制备 PLGA 微球不可比拟的优势。

## 参考文献

- [1] 赵贵哲, 刘亚青. 界面聚合法制备微胶囊阻燃剂的研究[J]. 化学进展, 2003, 22(3): 290-292.
- [2] Bai R. Preparation technique and biological performance of poly (lactic-co-glycolic acid) sustained-release microspheres [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2009, 13(34): 6769-6772.
- [3] Kim H G, Kim K M, Kim Y H, et al. Preparation of monodisperse ENX-loaded PLGA microspheres using a microfluidic flow-focusing device[J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2013, 7: 108-114.
- [4] 武玉敏, 李大伟. 溶剂蒸发法在微球制备中的应用[J]. 食品与药品, 2005, 7(3): 43-47.
- [5] Tewes F, Munnier E, Antoon B, et al. Comparative study of doxorubicin-loaded poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by single and double emulsion methods[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2007, 66(3): 488-492.
- [6] Felicity Y, Kristofer J, Thurecht, et al. Bioerodable PLGA-based microparticles for producing sustained-release drug formulations and strategies for improving drug loading [J]. Frontiers in Pharmacology, 2016, 7(185): 1-11.
- [7] Reverchon E, De Marco I, Caputo G, et al. Pilot scale micronization of amoxicillin by supercritical antisolvent precipitation[J]. Supercrit Fluids, 2003, 26(1): 1-7.
- [8] Christopher G F, Anna S L. Microfluidic methods for generating continuous droplet streams[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2007, 40(19): 319-336.
- [9] Anna S L, Bontoux N, Stone H A. Formation of dispersions using "flow focusing" in microchannels [J]. Appl Phys Lett, 2003, 82(3): 364-366.
- [10] Liu Z, Liu L, Ju X J, et al. K<sup>+</sup>-recognition capsules with squirting release mechanisms[J]. Chemical Communications, 2011, 47(45): 12283-12285.
- [11] Wang W, Zhang M J, Xie R, et al. Hole-shell microparticles from controllably evolved double emulsions[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2013, 52(31): 8084-8087.
- [12] Whitesides G M. The origins and the future of microfluidics[J]. Nature, 2006, 442(7101): 368-373.
- [13] Wang W, Xie R, Ju X J, et al. Controllable microfluidic production of multicomponent multiple emulsions[J]. Lab Chip, 2011, 11(9): 1587-1592.
- [14] Chu L Y, Utada A S, Shah R K, et al. Controllable monodisperse multiple emulsions[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2007, 46(47): 8970-8974.
- [15] Utada A S, Lorenceau E, Link D R, et al. Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device[J]. Science, 2005, 308(5721): 537-541. ■