

PLGA 微球的修饰及其应用

冯世森¹, 王文喜¹, 郑彩虹^{2*} (1.浙江工业大学药学院, 杭州 310014; 2.浙江大学医学院附属妇产科医院, 杭州 310006)

摘要: 微球作为新型的药物载体系统已广泛用于临床研究, 高分子化合物材料聚乳酸-羟基乙酸(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)因其良好的生物相容性和生物可降解性备受关注。近年来, PLGA 微球的研究一直是热门, 针对其释放缺陷出现了很多复合修饰方法, 主要包括环糊精、壳聚糖、聚乳酸、明胶、泊洛沙姆、聚乙烯亚胺等高分子材料的联用、针对末端基团进行化学修饰以及制备成核壳型微球, 在保证包封率的情况下大大降低突释, 改善药物释放曲线, 从而在药物传递、基因治疗、影像诊断、组织工程等领域得到了广泛的应用。

关键词: 聚乳酸-羟基乙酸; 微球; 修饰; 应用

中图分类号: R943

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)06-0830-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.06.040

Decoration and Application of PLGA Microspheres

FENG Shisen¹, WANG Wenxi¹, ZHENG Caihong^{2*} (1.School of Pharmacy, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Women's Hospital School of Medicine Zhejiang University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: Microspheres as novel drug delivery carriers have been widely used in clinical study, and poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) has been one of the most attractive polymeric candidates used to fabricate devices for drug delivery due to the biocompatible and biodegradable characteristics. In recent years, in order to figure out the defects during the drug release, polymeric combination and chemical modification has been extensively studied. And the design of double-walled microspheres also has been investigated. Moreover, encapsulation efficiency and the release profiles can be improved by different modification methods. And it is extensively used in drug deliver, gene therapy and imaging diagnosis, especially in the fields of tissue engineering.

KEY WORDS: PLGA; microspheres; decoration; application

高分子量的聚乳酸(poly lactic acid, PLA)在医疗卫生和药物制剂领域一直是研究热点^[1-2]。为了弥补此类材料的降解和释放缺陷, 人们合成以 PLA 为主的各类共聚物, 其中聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)作为其典型代表是被美国 FDA 批准的具有良好生物相容性的生物可降解材料, 常用于各种小分子药物、蛋白和遗传物质的载体材料^[3]。从曲普瑞林微球到亮丙瑞林微球、利培酮微球等可注射制剂的相继上市为 PLGA 微球的应用提供了良好的基础^[4]。近年来, 为克服 PLGA 微球释放缺陷日益开展了多方面的研究, 包括聚合物性质^[5]、微球形态和粒径^[6]、药物性质^[7]、添加剂^[8]等, 尤其在材料的修饰方面, 由原来单一的载体材料逐

渐向多元化发展。本综述总结了近年来 PLGA 微球的修饰方法, 并对复合微球的新应用进行了归纳和展望。

1 复合修饰

PLGA 微球的复合修饰主要是将 PLGA 与其它高分子材料联用, 以改善药物的稳定性和微球的释药行为, 其中最简单的方法是将 PLGA 与其它材料混合使用来制备微球, 从而弥补单一材料的不足; 也有研究者将 PLGA 与某些特定基团通过化学键结合, 进而改善材料的固有特性; 核壳型微球的设计极大的解决了突释问题; 另外, 通过引入脂质体、凝胶等制备微球分散体也成为了研究热点。复合修饰方式见图 1。

基金项目: 国家自然科学基金(81173000), 浙江省自然科学基金(LY14H300005)

作者简介: 冯世森, 男, 硕士生 Tel: 13757149025 E-mail: yeshu827@163.com

*通信作者: 郑彩虹, 女, 硕士生导师 Tel/Fax:

(0571)87037005 E-mail: chzheng@zju.edu.cn

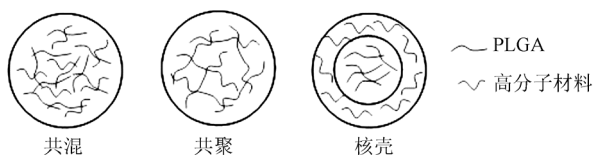


图1 复合修饰方式

Fig.1 Ways of composite decoration

1.1 共混修饰

1.1.1 CD/PLGA 微球 环糊精(cyclodextrin, CD)作为重要的辅料已广泛用于医药化工领域,尤其在药物制剂方面,因其包合物能有效地提高药物的溶解度、稳定性、释放速率和生物利用度等,备受学者青睐。已有不少文献报道了加入交联剂制备环糊精聚合物微球以及环糊精作为致孔剂在微球领域的应用^[9]。

在聚合物联用上,环糊精更是成为了研究的热点。如 Carmela 等^[10]将 2,6-二甲基-β-环糊精加入到油相中制备了含塞来昔布的 PLGA/CD 微球,包封率达 80%,药物呈零级释放特点,在人成骨细胞培养中表现出了良好的抗炎活性,对治疗风湿性关节炎有潜在的应用价值。

1.1.2 壳聚糖/PLGA 微球 壳聚糖(chitosan, CS)又称脱乙酰几丁质,为可溶性或粘性甲壳素,是一种弱阳离子多糖。Wang 等^[11]制备了包封低聚肽药物 Peptide-24 的壳聚糖/PLGA 微球,内水相为载药(M_1)PLGA 微球和壳聚糖的混合液,并将另一质量(M_2)药物加入此混合液中,油相为液体石蜡和少量司盘 80,所得的 W/O 乳液加入到三聚磷酸钠溶液中搅拌、固化即得。根据药物加入量的不同,制得的 3 种 PLGA/CS 微球粒径为 47.5, 63.1, 89.1 μm,载药量分别为 2.61%, 3.21%和 2.21%。相比于壳聚糖微球,PLGA/CS 微球拥有近零级释放特征和良好的控释效果,突释小,对肽结构的保护性强,是一种良好的生物活性肽载体。

1.1.3 PLA/PLGA 微球 Zhang 等^[12]考察了 PLA 和 PLGA 两类材料组合及 2 种微球混合对罗替戈汀微球体外释放的影响,并用数学模型对体外释药曲线进行拟合,结果不同比例的 PLA/PLGA 组合制备的微球与单独的 PLGA 微球有相似的释药行为,但 2 种材料分别制备的微球混合后释药特性与比例相关。另一方面,以末端羧基的 A 型 PLGA 和末端酯基的 E 型 PLGA 混合制备的微球其释药特性与比例相关,这主要是由于羧基封端的 PLGA 有更强的吸水能力,导致降解速度加快。

也有学者对此混合材料的安全性作了评价,如 Rong 等^[13]将 PLA/PLGA 微球注入新西兰兔的眼玻璃体内,研究其生物相容性和安全性,结果这种复合微球及其产物不会导致细胞死亡、炎症反应及任何视网膜组织学改变,因此为玻璃体腔内注射治疗眼部疾病提供了安全可靠的药物传递系统。

1.1.4 明胶/PLGA 微球 许多天然生物大分子例如明胶含有生物活性成分 RGD 氨基酸序列,这种序列是种公认的配体,可与多种整合素特异性结合,有效促进细胞对生物材料的粘附。Tan 等^[14]用复乳法制备了 PLGA/明胶复合微球,并用 EDAC 活化的 RGD 进行表面修饰,用于软骨细胞的传递。由于明胶的水化作用,微球表面呈褶皱状。与 PLGA 微球相比,PLGA/明胶微球和 PLGA/明胶-RGDS 微球在胎牛血清细胞培养基中失重率更小,说明培养基中的蛋白能延迟或阻滞明胶的释放。体外细胞培养实验证明,PLGA/明胶-RGDS 微球更能促进软骨细胞依附、增殖,是一种高效的注射细胞传递载体。

1.1.5 泊洛沙姆/PLGA 微球 过往有研究将生物可降解材料 PLGA、PLA、PCL 与亲水聚合物 PEO 共价连接来提高其亲水性^[15],但是,此类方式需要经历聚合物的化学反应,而且合成的新型聚合物还需要进行安全性的验证,较为繁琐。Mayol 等^[16]将两亲性泊洛沙姆添加到 PLGA 的油相里制备载姜黄素的纳米粒,用于抑制间皮瘤细胞的增殖。泊洛沙姆是由 PEO-PPO-PEO 组成的三嵌段式聚合物,有着亲水的 EO 段和疏水的 PO 段。在此研究中,泊洛沙姆与 PLGA 以 50/50 比例混合,增加了微粒的亲水性,使纳米粒更易到达肿瘤部位,而且在对间皮瘤细胞的药效学研究中表现出良好的增殖抑制作用,而且克服了药物的耐受现象。

1.1.6 PEI/PLGA 微球

聚乙烯亚胺是一种高效的阳离子非病毒基因载体,能与细胞表面多糖蛋白结合,通过内吞作用入胞。在微粒制备中,聚乙烯亚胺可作为致孔剂来制备分布均匀的多孔微球,与某些药物如前列腺素形成静电复合体,从而提高药物的包封率^[17]。利用聚乙烯亚胺的亲水性, Lee 等^[18]制备了多孔 PLGA/PEI_{1.8k} 微球支架用来传递间充质干细胞,大大提高了细胞在微球上的粘附性。在 2 周的 SD 大鼠体内研究中表现出较高的移植存活率和细胞功

能性。因为聚乙烯亚胺存在与分子质量大小相关的细胞毒性，所以研究者用了几乎无毒性的小分子量 PEI，避免了对传递细胞活性的影响。

1.2 共聚修饰

PLGA 聚合物的共聚修饰主要通过末端基团与其它高分子材料结合，根据其键合形式可分为以下几类：

1.2.1 羧基交联 PLGA 羧基末端能与带羟基或氨基化合物以酯键或酰胺键结合(图 2)，Lee 等^[19]用含大量羟基的支链淀粉和 PLGA 分子连接，并在此基础上接上叶酸形成共聚物，制备了具有癌细胞靶向的纳米粒，所用的模型药物阿霉素在肿瘤部位得到了有效的积累。这种共聚物赋予了 PLGA 微球两亲性，PLGA 形成疏水的药物容器而亲水的支链淀粉暴露在纳米粒表面，叶酸与淀粉链结合也暴露于外部，发挥载体的配体靶向作用。

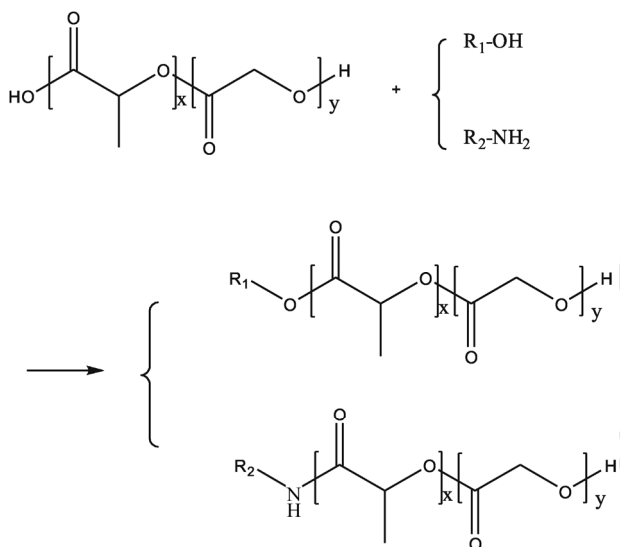


图 2 羧基修饰示意图

Fig. 2 Diagram of carboxyl modification

Zhou 等^[20]用分子中含半乳糖残基的乳糖酸与 PLGA 共聚合成了具有肝靶向特征的载体材料，所制得的载 ϵ -PL 的乳糖酸-PLGA 纳米粒具有较高的蛋白包封率，突释小，持续释放稳定，且在肝部位的分布明显增加。

1.2.2 羟基修饰 末端羟基常与带羟基基团反应生成酯(图 3)，也可和一些氮杂环反应生成过度态化合物，如 Li 等^[21]将 PLGA 与 CDI 反应使其末端接上咪唑环，继而嫁接多聚组氨酸，得到 PLH-PLGA-TPGS 聚合物用来制备载阿霉素 pH 敏感型纳米粒，用于抑制人乳腺癌细胞的生长。

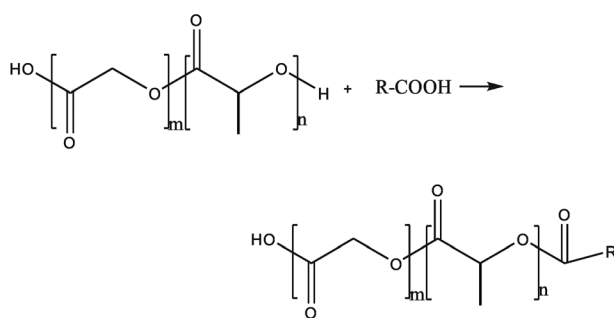


图 3 羟基修饰示意图

Fig. 3 Diagram of hydroxy modification

1.2.3 单体聚合 此类聚合方式是直接以丙交酯和乙交酯为原料合成末端修饰的 PLGA(图 4)。如 Ma 等^[22]用 GA、LA 和 TPGS 从源头合成了 PLGA-TPGS 来制备载多烯紫杉醇用于治疗恶性肿瘤，TPGS 自身具有乳化作用，从而使 PLGA-TPGS 纳米粒携带药物时具有更高的包封效率和细胞摄取能力。

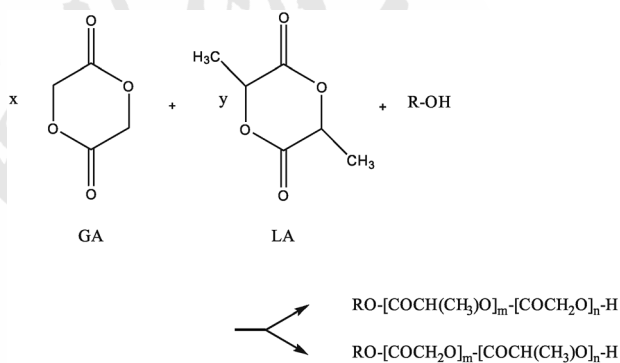


图 4 单体反应示意图

Fig. 4 Diagram of monomers reaction

1.2.4 间接结合 某些高分子材料难以和 PLGA 直接通过羟基或羧基结合，于是需借助过度材料连接，常见于多重共聚物微球。如聚天冬氨酸肽链因为与羟基磷灰石有较强的结合力，常用于骨靶向给药的研究，但它难以与 PLGA 直接嫁接，Jiang 等^[23]制备了马来酰亚胺-PEG-PLGA 纳米粒，聚天冬氨酸肽链通过巯基与马来酰亚胺上的双键烷化反应，从而将荧光标记的肽链嫁接到微粒表面。小鼠胫骨切片显示这种天冬氨酸肽修饰的纳米粒有良好的骨组织靶向功能，而且不会对人类成骨细胞如 MG63 细胞系产生毒性，在骨疾病治疗中安全性较高。

1.3 核壳型微球

核壳型微球根据制备原理可分为相分离乳化

法、物理吸附法、机械法(表 1)。相分离乳化法于 1994 年 Kathleen^[24]根据铺展系数理论提出,当两种聚合物溶液混合,若表面张力和界面张力值符合某一特定要求,其中一相会向另一相表面扩散,继而包裹成球。但是此方法成壳条件苛刻,只有当两相界面张力、表面张力同时满足要求时才能形成核壳型微球,否则为部分包含或不包含。而且,如果相分离时间超过聚合物在非溶剂相中析出的时间,那么也达不到理想的结构。物理吸附法是将一些特定的多肽或蛋白通过静电吸附的方式包裹于微球表面,从而减小突释或具有靶向作用,但是此法得到的微球壳层也远不如其它方法。机械法可控性强,技术原理简单,常用于制备亲水性壳层,能够减小甚至消除微球释放的时滞期^[25]。

表 1 不同方法制备的核壳型微球

Tab. 1 Core-shell microspheres prepared by different methods

药物	核	壳	方法	文献
BSA/环孢素 A	POE	PLGA	相分离乳化法	[26]/[27]
5-氟尿嘧啶/BSA	PLGA	PLGA or PLA	相分离乳化法	[28]
硫酸庆大霉素	PLGA	PLA	相分离乳化法	[29]
依他硝唑	PLGA	PLA	相分离乳化法	[30]
辣根过氧化酶	PLGA	丝蛋白	静电吸附	[31]
多烯紫杉醇	PEG-PLGA	谷胱甘肽	静电吸附	[32]
生长因子	PLGA	PDLLA	电流体驱动装置	[33]
紫杉醇/苏拉明	PLA	PLGA	电流体驱动装置	[34]
生长因子	PLGA	海藻酸钙	同轴双喷嘴装置	[35]
阿霉素	PLGA	PDLLA	粒子制造设备	[36]

1.4 微球分散体

1.4.1 微球脂质 PLGA 微粒和脂质微粒在长循环、生物利用度、包封率上有着共同的优势,已被广泛研究,两者又有独自的特点,如 PLGA 微粒的降解速率可通过控制聚合比来调节,而脂质微粒可同时包封亲水性和疏水性药物。Ma 等^[37]为了提高蛋白药物的口服生物利用度制备了微球脂质体,PLGA 核与脂质分子能在 W_1/O 和 O/W_2 界面自组装成粒,方法简便快捷。与 PLGA 微球相比,该复合载体拥有更高的蛋白包封率(90.82%)和更低的药物突释(24.73%),且在微皱褶细胞上有较高的胞吞转运效率,从而促进药物在肠道的吸收。

1.4.2 微球凝胶 水凝胶具有良好的生物相容性,在药物控释领域应用广泛,但水凝胶孔隙大,

含水量高,释药速度较快。将载药的可降解微球分散在凝胶中制成复合系统,既能弥补水凝胶控释的不足,也能解决单独微球存在的缺陷。药物从微球中释放后进入凝胶网络体系,再由凝胶体系扩散出去,改善了释药动力学。Sellers 等人^[38]制备了嵌 PLGA 微球的普朗尼克 F-127 凝胶作为凝血酶抑制剂水蛭素和肝素的载体系统,应用于脱髓鞘的治疗。这种水凝胶储库有良好的缓释作用,在横向脱髓鞘病变的动物体内研究表明,载水蛭素的 PLGA/F-127 凝胶治疗的老鼠体内 CD68+巨噬细胞相比于肝素治疗组要少,且少胶质细胞增加。所以,在此载体系统中,水蛭素能较好的发挥功效,促进脱髓鞘损伤的修复。

1.4.3 包合物微球 稳定性一直是载蛋白微球制备的关键问题,而且药物在聚合物中的分散状态也是影响释放曲线的重要因素。Flores-fernández 等^[39]先对糜蛋白酶进行糖基化修饰,再用甲基-β-环糊精包合制成冻干粉,最后用 S/O/W 法将其分散进 PLGA 微球,最高包封率达 61%。糖基化能避免包封过程中蛋白的聚集和失活,从而增强稳定性。体外释放研究表明,利用包合物制得的微粒具有更低的药物突释,最低为 17%。

2 PLGA 复合微球的应用

2.1 药物传递

PLGA 微球被植入体内后主要通过溶蚀方式向周围组织缓慢释药。LHRH 类似物微球是研究最早、品种最多的多肽缓释注射剂,如日本武田化学制药公司开发的亮丙瑞林微球^[40],其生物活性为 LHRH 的 15 倍,能在体内缓释 1 个月。2002 年美国 Janssen 公司研发的利培酮缓释注射用微球上市,主要用于抗精神病,每两周注射 1 次使微球制剂成功运用于小分子药物领域。但是其存在 3 周的释放延滞期^[41],仍需对患者口服给予一定量的抗精神病药物,给治疗带来不便。林霞等^[42]将利培酮 PLGA 微球与乙酸异丁酸蔗糖酯原位贮库结合起来,制备了无时滞期、突释小的符合载体,实现体内持续释放 78 d。

2.2 基因载体

转基因治疗是借助外源基因在自体细胞内表达从而有效控制疾病,传统的给药方式是用过病毒载体注射给药,存在生物安全隐患。乔春燕^[43]以 PLGA 为载体材料制备了包覆 BMP-2 基因的微

球用于治疗牙槽骨的吸收萎缩。24 h 突释仅为 7.5%，后持续释放达 45 d。随后又制备了载 CaPi/DNA 复合 PLGA 微球和载 PEI/Pbmp-2 符合微球，均表现出良好的细胞转染和基因表达效果。

2.3 影像诊断

磁性微球除了通过磁靶向作用使药物在患处富集的优点外^[44]，其在造影诊断上的运用也备受瞩目。刘伟娜^[45]利用乳化法制备了包裹磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒和抗癌药物盐酸阿霉素的 PLGA 微球用于超声/磁共振双模成像的研究，使体外成像效果增强，且可用于体内肝脏 T_2 磁共振成像。

2.4 组织工程

该应用最直接的方式是将 PLGA 包载生长因子，通过释放生长因子促进伤口修复^[46]。其次，将 PLGA 微球与组织工程中的相关技术联用，也成为近年来研究的热点。

2.4.1 骨水泥 磷酸钙骨水泥(CPC)凭借良好的生物相容性、可注射性和成骨活性等优势被认为是骨缺损修复材料的一个重大突破。磷酸钙骨水泥常用于填充骨缺陷研究，因为它有良好的骨反应，但由于降解性差抑制了骨再生。为了提高它的降解，Lanao 等^[47]将 PLGA 微球作为“致孔剂”制备了 PLGA 磷酸钙骨水泥复合物，运用于骨修复再生中。研究者比较了 PLGA 材料末端羧基和酯基、致密型和中空型微球对骨水泥降解的影响，结果末端羧基的 PLGA 微球呈现良好的气孔和生物相容性。此外，致密型微球较中空型微球能诱发更多的骨水泥降解和骨组织形成，且具有良好的骨传导性。

PLGA 除了作骨水泥的致孔材料加速其降解外，还可以作为生长因子的载体材料，如 Reyes 等^[48]将多种生长因子载于磷酸氢钙-PLGA 骨水泥系统中，促进骨修复再生。该植入剂是磷酸盐固相和酸性液相的混合物，血小板生长因子和转化生长因子载于液相中，包封血管内皮生长因子的 PLGA 微球与固相交联，所得微球骨水泥系统具有良好的控释作用，在缺位能显著提高骨再生能力。另外 Morille 等^[49]通过加入泊洛沙姆 P188 与 PLGA 共价结合制备 PLGA-P188-PLGA 微球，使 TGF- β 3 持续释放达 70%，这种良好的蛋白相容性要归功于泊洛沙姆的两亲性。而且，这种新颖的 PLGA-P188-PLGA 微球表面覆有纤连蛋白，从而

巩固了间充质干细胞的存活和增殖。

2.4.2 细胞支架 近年来，以微球为骨架设计细胞载体的研究越来越多。Outachi 等^[50]采用 W/O/W 复乳法制备多孔 PLGA 微球用于细胞载体。内水相加入少量 PBS 作致孔剂，所得的多孔微球再用 30%NaOH:70%乙醇溶液处理，因为 NaOH 能促进羧酸暴露从而提高聚合物表面湿润度，增加表面空隙而不会导致崩解。微球平均粒径为 84 μm ，在体温下微球融合形成支架结构，其 24 h 后的抗压强度为 0.9 MPa，空隙度达 81.6%，平均孔径为 $(54 \pm 38)\mu\text{m}$ 。此研究制备的多孔 PLGA 微球在体温下能形成固体多孔支架，为细胞的依附和增殖提供了可能性。

Zhang 等^[51]用溶剂挥发法制备了表面光滑和多孔的 PLGA 微球，并对 PLGA 分子量及其组成、致孔剂进行了考察。分子量 20 000 的 PLGA 比分子量 50 000 更容易形成气孔，换言之其形成的微孔密度和孔径更大。在此微球的基础上用胶原蛋白 I 型进行修饰，得到胶原蛋白多孔微球载体。三维细胞培养试验中，卵巢癌 HO8910 细胞在未经修饰和经胶原蛋白修饰的微球上均有较好的粘附和繁殖，并成功表达了钙粘附蛋白 E，且后者更加显著。所以，多孔 PLGA_{20K}(65:35)微球可作为癌细胞培养的支架用于进一步的病理学研究和抗癌药筛选。

2.4.3 有机薄膜 介质辅助脉冲激光蒸发技术已成功应用于有机、高分子聚合物薄膜的制备。Grumezescu 等^[52]在地衣酸 PLGA 微球的基础上，利用该技术获得了含微球薄膜，用于控释金黄色葡萄球菌的生长。用到的磁性纳米粒子材料为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@C_{14}$ ，制备中与聚合物 PLGA 一起加到三氯甲烷油相混合，然后用溶剂挥发法制得 PLGA- $\text{Fe}_3\text{O}_4@C_{14}$ -UA 微球，结果不仅抑制了该球菌的原始依附行为，也能抑制成熟的生物膜形成。薄膜生物学评价显示了较好的生物相容性，能抵抗金黄色葡萄球菌的繁殖。

2.4.4 纳米纤维支架 纳米纤维支架已广泛用于纤维组织工程，包括膝盖半月板、肌腱、韧带、血管和关节软骨等的替换和修复。纳米纤维支架通过改进可以获得控释的效果，抗生素、生长因子等药物可通过该系统自发的进行传递。这类载药的纳米纤维支架往往是将药物直接与高分子聚

合物溶液混合进行电纺丝, 因此纤维支架的性能受药物性质的影响较大。Ionescu 等^[53]对此提出了一个新的改进方法, 将纳米纤维支架和 PLGA 微球结合起来制备了复合控释载体。微球粒径为 10~20 μm , 在纤维支架上有良好的嵌合或包埋。每支纤维上微球嵌合的密度增加, 复合物的刚性和硬度会随之减小, 但微球在纤维间的包埋不会对其产生影响。这种复合结构的释放行为与纯微球体系相似, 且持续释放达 4 周, 在组织再生的应用上具有独特的优势。

3 结语

PLGA 微球能提高药物的靶向性, 减少血药浓度波动, 减少给药次数, 提高患者的顺应性。相比于小分子化合物, 蛋白或多肽类微球需更多的考虑制备工艺对其活性的影响, 因此难度更大。高分子材料复合微球弥补了 PLGA 本身疏水的缺点, 大大提高了药物的包封率和稳定性, 为蛋白和多肽药物的传递提供了广阔的发展空间。在应用上, 微球所载药物范围广泛, 尤其在组织工程学领域的应用愈加突出。虽然注射用缓释微球长期被发达国家企业垄断, 但随着近年来我国越来越多的微球产品相继上市, 该领域的研究也会不断得到重视和完善。

REFERENCES

[1] CHEN X, WANG L, LIU Q, et al. Polycation-decorated PLA microspheres induce robust immune responses via commonly used parenteral administration routes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23(2): 592-602.

[2] HERRERO-VANRELL R, BRAVO-OSUNA I, ANDRÉS-GUERRERO V, et al. The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases and other intraocular pathologies [J]. *Progress in retinal and eye research*, 2014(42): 27-43.

[3] MAKADIA H K, SIEGEL S J. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier [J]. *Polymers*, 2011, 3(3): 1377-1397.

[4] RAWAT A, BHARDWAJ U, BURGESS D J. Comparison of *in vitro-in vivo* release of Risperdal® Consta® microspheres [J]. *Int J Pharm*, 2012, 434(1): 115-121.

[5] VYSLOUŽIL J, DOLEŽEL P, KEJDUŠOVÁ M, et al. Influence of different formulations and process parameters during the preparation of drug-loaded PLGA microspheres evaluated by multivariate data analysis [J]. *Acta Pharm*, 2014, 64(4): 403-417.

[6] D'SOUZA S, FARAJ J, DELUCA P. Microsphere delivery of Risperidone as an alternative to combination therapy [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3): 631-639.

[7] SELMIN F, BLASI P, DELUCA P P. Accelerated polymer biodegradation of risperidone poly (d, l-lactide-co-glycolide)

microspheres [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2012, 13(4): 1465-1472.

[8] RAWAT A, BURGESS D J. Effect of ethanol as a processing co-solvent on the PLGA microsphere characteristics [J]. *Int J Pharm*, 2010, 394(1): 99-105.

[9] SHINOHARA K, YAMASHITA M, UCHIDA W, et al. Preparation of polypseudorotaxanes composed of cyclodextrin and polymers in microspheres [J]. *Chem Pharm Bull*, 2014, 62(10): 962-966.

[10] CARMELA C, SILVANA T, ROSANNA S, et al. Celecoxib-loaded PLGA/cyclodextrin microspheres: Characterization and evaluation of anti-inflammatory activity on human chondrocyte cultures [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2013(111C): 289-296

[11] WANG M, FENG Q, GUO X, et al. A dual microsphere based on PLGA and chitosan for delivering the oligopeptide derived from BMP-2 [J]. *Polym Degradat Stability*, 2011, 96(1): 107-113.

[12] ZHANG J W, WANG A P, LI P, et al. Influences of PLGA/PLA and microsphere blends on the release of rotigotine from the microspheres [J]. *Chin New Drugs J(中国新药杂志)*, 2014, 23(4): 465-469.

[13] RONG X F, MO X F, LU Y, et al. Safety evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(lactic-acid) microspheres through intravitreal injection in rabbits [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 2014(1): 3057-3068

[14] TAN H, HUANG D, LAO L, et al. RGD modified PLGA/gelatin microspheres as microcarriers for chondrocyte delivery [J]. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2009, 91(1): 228-238.

[15] GEORGIADIS D. Sub-100 nm biodegradable nanoparticle: *In vitro* release features and toxicity testing in 2D and 3D cell cultures [J]. *Nanotechnology*, 2013, 24(4): 45101-45115.

[16] MAYOL L, SERRI C, MENALE C, et al. Curcumin loaded PLGA-polyoxamer blend nanoparticles induce cell cycle arrest in mesothelioma cells [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015(93): 37-45.

[17] GUPTA V, AHSAN F. Influence of PEI as a core modifying agent on PLGA microspheres of PGE 1, a pulmonary selective vasodilator [J]. *Int J Pharm*, 2011, 413(1): 51-62.

[18] LEE Y S, LIM K S, OH J E, et al. Development of porous PLGA/PEI 1.8 k biodegradable microspheres for the delivery of mesenchymal stem cells (MSCs) [J]. *J Control Release*, 2015(205): 128-133

[19] LEE S J, SHIM Y H, OH J S, et al. Folic-acid-conjugated pullulan/poly (DL-lactide-co-glycolide) graft copolymer nanoparticles for folate-receptor-mediated drug delivery [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2015, 10(1): 1-11.

[20] ZHOU P, AN T, ZHAO C, et al. Lactosylated PLGA nanoparticles containing ϵ -polylysine for the sustained release and liver-targeted delivery of the negatively charged proteins [J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(2): 633-643.

[21] LI Z, QIU L, CHEN Q, et al. pH-sensitive nanoparticles of poly (L-histidine)-poly (lactide-co-glycolide)-tocopheryl polyethylene glycol succinate for anti-tumor drug delivery [J]. *Acta biomater*, 2015(11): 137-150.

[22] MA Y, ZHENG Y, LIU K, et al. Nanoparticles of poly(lactide-co-glycolide)-D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cancer treatment. *Nanoscale Res Lett*, 2010(5): 1161-1169.

[23] JIANG T, YU X, CARBONE E J, et al. Poly aspartic acid peptide-linked PLGA based nanoscale particles: potential for

- bone-targeting drug delivery applications[J]. International journal of pharmaceuticals, 2014, 475(1): 547-557.
- [24] PEKAREK K J, JACOB J S, MATHIOWITZ E. One-step preparation of double-walled microspheres [J]. *Advanc Mater*, 1994, 6(9): 684-687.
- [25] WU J, KONG T, YEUNG K W K, et al. Fabrication and characterization of monodisperse PLGA-alginate core-shell microspheres with monodisperse size and homogeneous shells for controlled drug release [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(7): 7410-7419.
- [26] SHI M, YANG Y Y, CHAW C S, et al. Double walled POE/PLGA microspheres: encapsulation of water-soluble and water-insoluble proteins and their release properties [J]. *J Control Release*, 2003, 89(2): 167-177.
- [27] YANG Y Y, SHI M, GOH S H, et al. POE/PLGA composite microspheres: formation and *in vitro* behavior of double walled microspheres [J]. *J Control Release*, 2003, 88(2): 201-213.
- [28] ZHENG W. A water-in-oil-in-oil-in-water (W/O/O/W) method for producing drug-releasing, double-walled microspheres [J]. *Inter J Pharm*, 2009, 374(1): 90-95.
- [29] TAN H, YE J. Surface morphology and *in vitro* release performance of double-walled PLLA/PLGA microspheres entrapping a highly water-soluble drug [J]. *Applied Surface Sci*, 2008, 255(2): 353-356.
- [30] LEE S J, SHIM Y H, OH J S, et al. Folic-acid-conjugated pullulan/poly (DL-lactide-co-glycolide) graft copolymer nanoparticles for folate-receptor-mediated drug delivery [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2015, 10(1): 1-11.
- [31] WANG X, WENK E, HU X, et al. Silk coatings on PLGA and alginate microspheres for protein delivery [J]. *Biomaterials*, 2007, 28(28): 4161-4169.
- [32] GROVER A, HIRANI A, PATHAK Y, et al. Brain-targeted delivery of docetaxel by glutathione-coated nanoparticles for brain cancer [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2014, 15(6): 1562-1568.
- [33] CHANG P C, CHUNG M C, LEI C L, et al. Biocompatibility of PDGF-simvastatin double-walled PLGA (PDLLA) microspheres for dentoalveolar regeneration: A preliminary study [J]. *J Biomed Mater Res*, 2012, 100(11): 2970-2978.
- [34] NIE H, DONG Z, ARIFIN D Y, et al. Core/shell microspheres via coaxial electrohydrodynamic atomization for sequential and parallel release of drugs [J]. *J Biomed Mater Res Part A*, 2010, 95(3): 709-716.
- [35] CHOI D H, PARK C H, KIM I H, et al. Fabrication of core-shell microcapsules using PLGA and alginate for dual growth factor delivery system [J]. *J Control Release*, 2010, 147(2): 193-201.
- [36] XU Q, CHIN S E, WANG C H, et al. Mechanism of drug release from double-walled PDLLA (PLGA) microspheres [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(15): 3902-3911.
- [37] MA T, WANG L, WANG D, et al. PLGA-lipid liposphere as a promising platform for oral delivery of proteins [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2014(117): 512-519.
- [38] SELLERS D L, KIM T H, MOUNT C W, et al. Poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres encapsulated in Pluronic F-127 prolong hirudin delivery and improve functional recovery from a demyelination lesion [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(31): 8895-8902.
- [39] FLORES-FERNÁNDEZ G M, GRIEBENOW K. Glycosylation improves a-chymotrypsin stability upon encapsulation in poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres [J]. *Results Pharma Sci*, 2012(2): 46-51.
- [40] MEI X G, HUANG S H, BAI C Z. Worldwide development Status of injectable microspheres for sustained release [J]. *Chin J Drug Eval(中国药物评价)*, 2014, 4(1): 27-28.
- [41] WANG L L. Risperidone microsphere injection: the first long-acting atypical antipsychotic [J]. *Chin J New Drug(中国新药杂志)*, 2010, 19(22): 2066-2069.
- [42] LIN X, TANG X, XU Y H, et al. Preparation and evaluation of risperidone-loaded microsphere/sucrose acetate isobutyrate in situ forming complex depot with double diffusion barriers [J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2015, 65(6): 775-782.
- [43] QIAO C Y. Preparation and characterization of PLGA microspheres loading BMP-2 plasmid and its effect on bone formation *in vitro* and *in vivo* [D]. Jilin University(吉林大学), 2013.
- [44] DONG X. Preparation and characterization of doxorubicin-loaded PLGA magnetic nanoparticles [J]. *J Changshu Institute Technol(常熟理工学院学报)*, 2008, 21(10): 43-45.
- [45] LIU W N. Drug loaded PLGA microspheres for theranostic applications [D]. DongHua University(东华大学), 2014.
- [46] GAINZA G, AGUIRRE J J, PEDRAZ J L, et al. rhEGF-loaded PLGA-Alginate microspheres enhance the healing of full-thickness excisional wounds in diabetised Wistar rats [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 50(3): 243-252.
- [47] LANAO R P F, LEEUWENBURGH S C G, WOLKE J G C, et al. Bone response to fast-degrading, injectable calcium phosphate cements containing PLGA microparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(34): 8839-8847.
- [48] REYES R, DE LA RIVA B, DELGADO A, et al. Effect of triple growth factor controlled delivery by a brushite-PLGA system on a bone defect [J]. *Injury*, 2012, 43(3): 334-342.
- [49] MORILLE M, VAN-THANH T, GARRIC X, et al. New PLGA-P188-PLGA matrix enhances TGF-β3 release from pharmacologically active microcarriers and promotes chondrogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *J Control Release*, 2013, 170(1): 99-110.
- [50] QUTACHI O, VETSCH J R, GILL D, et al. Injectable and porous PLGA microspheres that form highly porous scaffolds at body temperature [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(12): 5090-5098.
- [51] ZHANG T, ZHANG Q, CHEN J, et al. The controllable preparation of porous PLGA microspheres by the oil/water emulsion method and its application in 3D culture of ovarian cancer cells [J]. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects*, 2014(452): 115-124.
- [52] GRUMEZESCU V, HOLBAN A M, GRUMEZESCU A M, et al. Usnic acid-loaded biocompatible magnetic PLGA-PVA microsphere thin films fabricated by MAPLE with increased resistance to staphylococcal colonization [J]. *Biofabrication*, 2014, 6(3): 035002. Doi: 10.1088/1758-5082/6/3/035002
- [53] IONESCU L C, LEE G C, SENNETT B J, et al. An anisotropic nanofiber/microsphere composite with controlled release of biomolecules for fibrous tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14): 4113-4120.

收稿日期: 2015-12-05