微球固化过程中溶剂去除速率对醋酸亮丙瑞林微球性质的影响

李延森[1]，王爱萍[1,2]*，梁荣财[1,2]，许丽晓[1,2]，孙考祥[1,2]

（1. 烟台大学药学院，新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心，分子药理和药物评价教育部重点实验室（烟台大学），山东烟台 264005；2. 山东绿叶制药有限公司长效和靶向制剂国家重点实验室，山东烟台 264003）

摘要：该研究旨在考察微球固化过程中溶剂的去除速率对微球性质，尤其是释药特性的影响。采用复乳化 - 溶剂挥发法制备醋酸亮丙瑞林（**1**）微球，通过改变油 - 水相体积比（指内水相和油相体积和与外水相体积比）、固化温度及外水相中甘露醇浓度等工艺条件来改变固化过程中溶剂去除速率，并以包封率、粒径、形态结构及体外释放为评价指标，考察溶剂去除速率对微球性质的影响。结果显示，随外水相占比减少，溶剂去除速率减慢，药物包封率由 74.7％显著降低至 21.9％；外水相占比低的 **1** 微球，其表面及内部会形成较大孔洞，药物初始释放率快。固化温度升高，则溶剂去除速率增快，但对微球的形态无明显影响，药物释放速率略有增加。外水相中加入甘露醇后，溶剂去除速率减慢，形成内部结构致密的微球，但会使药物集中于微球表面，导致释药速率加快。微球固化过程中不同工艺条件所致的不同溶剂去除速率对微球性质的影响各有差异，该研究结果为建立工艺条件与微球释药行为的关联性提供了依据。

关键词：醋酸亮丙瑞林；微球；固化；溶剂去除；体外释放

中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255（2023）06-0927-10

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.06.014

Effect of Solvent Removal Rate during the Soidification Process on the Properties of Leuprolide Acetate-loaded Microspheres

LI Yansen[1], WANG Aiping[1,2]*, LIANG Rongcai[1,2], XU Lixiao[1,2], SUN Kaoxiang[1,2]

(*1. Key Lab. of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation (Yantai University), Ministry of Education, Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Delivery System and Biotech Drugs in Universities of Shandong, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005; 2. State Key Lab. of Long-acting and Targeting Drug Delivery System, Shandong Luye Pharmaceutical Co., Ltd., Yantai 264003*)

ABSTRACT: This study aimed to investigate the effects of solvent removal rate during the solidification process on the properties of microspheres, especially drug release rate. The leuprolide acetate (**1**)-loaded poly(lactic-*co*-glycolic acid) (PLGA) microspheres were prepared by a double emulsion-solvent evaporation method. The effects of solvent removal rate on the properties of microspheres were investigated with encapsulation efficiency, particle size, morphology, and *in vitro* drug release as the evaluation indexes. Different solvent removal rates were obtained by changing the process parameters, namely oil-water phase volume ratio (referred as volume ratio of internal water and oil phases to external water phase), solidification temperature, and mannitol concentration in the external water phase. The results indicated that the high oil-water phase volume ratio resulted in a slower solvent removal rate and lower drug encapsulation efficiency (from 74.7% decreased to 21.9%), making the aqueous-phase microdroplets within the emulsion droplets more prone to coalesce and creating larger pores on the surface and inside of the microspheres, thus accelerating the initial burst release. As the solidification temperature increased, the solvent removal rate was faster. However, there was no significant effect on the morphology of the microspheres, and the drug release rate was slightly accelerated. Due to the osmotic pressure, the solvent removal rate decreased after adding mannitol to the external water phase, making the microspheres with mannitol had a smooth and dense structure. But the drug would concentrate on the surface of the microspheres, which would increase the drug release rate. The variation in the solvent removal rate due to different process parameters during the solidification of the microspheres has a variable effect on the properties of the microspheres. The results provide a basis for establishing the correlation between process parameters and microsphere drug release behavior.

Key Words: leuprolide acetate; microsphere; solidification; solvent removal; *in vitro* release

微球是指将药物溶解或分散于高分子载体材料中，形成粒径为 1 ～ 250 μm 的基质型微小球状实体。常用的高分子载体材料有可生物降解的聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物（PLGA）和聚乳酸（PLA）[1]。微球制剂具有长效、缓释、降低给药频率、增加患者顺应性、减轻不良反应、提高药物稳定性等优点；市场规模已超过 65 亿美元，平均市场表现并不亚于新分子实体。然而，截至目前，经美国 FDA 批准上市的 PLGA 微球仅有 12 种 [2—3]。导致微球制剂开发困难的主要原因在于其制备工艺的复杂性，而且错综复杂的制备工艺对微球释药行为的影响尚不明确，导致工艺产业化放大难、技术壁垒高 [4]。

微球的制备方法主要有乳化 - 溶剂挥发法、喷雾干燥法、相分离法等。其中，乳化 - 溶剂挥发法的应用较广泛。该法首先将药物溶解或乳化于含有高分子材料的有机溶剂中，在高速剪切作用下加至含表面活性剂的连续相中乳化形成液滴，然后挥发有机溶剂、固化得到微球 [5]。在微球的制备过程中，乳化和固化工艺对微球的性质有重要影响。微球固化过程中溶剂的去除是一个复杂的过程，溶剂首先扩散至微球表面，随后被萃取至连续相，最终从连续相与空气的界面处挥发 [6]。有研究 [7] 表明，随外水相体积等工艺条件的改变，固化过程中溶剂的去除速率也发生改变，进而影响微球的性质，但其影响程度和机制尚不明确。因此，有必要探究微球固化过程中的微观盲区，明确微球复杂的固化工艺对微球释药行为的影响，并进行机制探讨，实现对微球释药行为的精准调控。

本研究以醋酸亮丙瑞林（leuprolide acetate，**1**）为模型药物，采用复乳化 - 溶剂挥发法制备微球，通过改变油相和内水相的体积之和与外水相的体积比（以下简称油水比）、固化温度以及外水相甘露醇浓度等显著影响微球固化过程中溶剂去除速率的工艺条件，考察微球固化工艺过程中不同溶剂去除速率对微球性质的影响。本研究通过监测微球固化过程中关键质量属性，即微球中二氯甲烷（DCM）的含量来表征并探讨溶剂去除速率对微球性质的影响，通过观测液滴微观形态以了解微球不同结构形成的机制，为建立工艺条件与微球性质的关联性提供依据。

收稿日期：2023-04-13

作者简介：李延森（1998—），男，硕士，专业方向：长效缓控释制剂。

通信作者：王爱萍（1978—），女，博士，副教授，从事长效缓控释制剂、靶向制剂的研究。

E-mail：wangaiping@luye.com

1　仪器与试药

T25 型分散乳化均质机（德国 IKA 公司）；OOLX 型高剪切均质乳化机（上海依卡机电制造有限公司）；7890B 型气相色谱仪、1260 型高效液相色谱（HPLC）仪（美国 Agilent 公司）；Mastersizer 3000 型激光粒度仪（英国马尔文仪器有限公司）；Phenom XL 型台式扫描电镜（SEM，荷兰 Phenom 公司）；DM750 型光学显微镜（德国 Leica 公司）；FreeZone 型冻干机（美国 Labconco 公司）。

1 原料药（中肽生化有限公司，含量≥ 98%，批号 18071101）；PLGA（美国 Lakeshore Biomaterials 公司，型号 7525 2A）；聚乙烯醇（PVA，美国 Sigma-Aldrich 公司）；甘露醇溶液（山东齐都药业有限公司，规格 250 mL ∶ 50 g，批号 1A16030501）；甲醇、乙腈、乙酸、磷酸、*N*,*N*- 二甲基乙酰胺（DMA）为色谱纯，DCM 为分析纯。

2　方法与结果

2.1　**1** 微球的制备

用 $W_1/O/W_2$ 型复乳化 - 溶剂挥发法制备 **1** 微球 [5]。精密称取 **1** 原料药溶于去离子水作为内水相；精密称取 PLGA 溶于 DCM 作为油相。将内水相加至油相中，在冰水浴中乳化（13 500 r/min）1 min，得初乳液。通过注射器以约 5 mL/min 的速度将初乳加至 0.5% PVA 溶液 500 mL 中，乳化（1 200 r/min）2 min，形成复乳，150 r/min 搅拌 4 h 以挥发 DCM、固化微球，所得混悬液过 10 μm 筛网，收集微球，经去离子水洗涤后冷冻干燥，即得 **1** 微球。图 1 为工艺流程示意图。

2.2　微球评价指标

2.2.1　液滴形态

分别于乳化形成复乳液滴后 0.5、1、2、10 min 时取乳状液 2 mL 作为样品，置载玻片上并用盖玻片密封以控制 DCM 的挥发，通过光学显微镜观察

液滴的形态。

2.2.2 DCM 含量测定

在微球固化过程中，分别于 5、15、30、60、120、240 min 时取混悬液 35 mL，经筛网过滤，收集湿微球；吸干水分后精密称取 20 mg，置 10 mL 顶空瓶中，加入 DMA 并密封，采用气相色谱法[5]测量 DCM 含量。每个样品平行测量 3 次。

色谱条件：色谱柱 DB-624 型毛细管柱（30 m×0.53 mm×3 μm）；柱温 程序升温，初始柱温 40 ℃，维持 6 min，以 40 ℃ /min 升至 200 ℃，维持 3 min；进样室温度 200 ℃；分流比 5 ∶ 1；检测器 氢火焰离子化检测器（FID）；加热器温度 260 ℃。

在该色谱条件下，DCM 和 DMA 的保留时间分别为 5.24 和 10.20 min，日内及日间 RSD 分别为 1.9%、2.2%，均小于 10%，表明该法的专属性、精密度等均满足试验要求。

2.2.3 粒径

采用激光粒度仪测定 **1** 微球粒径及粒度分布，以 0.1% Tween-20 水溶液作为分散介质，设置转速为 2 500 r/min，取适量 **1** 微球样品稀释至遮光度为 7%，待本品分散均匀后，测其粒径，平行测定 3 次。

2.2.4 载药量和包封率

精密称取 **1** 微球 3 份，每份 20 mg，分别置 10 mL 量瓶中，加入乙腈 2 mL，超声溶解后加入 0.1% 乙酸溶液稀释并定容，离心（16 060×*g*）10 min，取上清液作为供试品溶液，采用 HPLC 法测定其中 **1** 的含量。每个样品平行测定 3 次。

色谱条件[5]：色谱柱 C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 0.5% 磷酸缓冲液与乙腈（体积比 75 ∶ 25）的混合溶液；柱温 50 ℃；检测波长 220 nm；流速 1.5 mL/min；进样量 10 μL。

在该色谱条件下，**1** 和乙酸的保留时间分别是 5.4 和 1.8 min。**1** 质量浓度（*c*）为 10 ～ 300 μg/mL 时与峰面积（*A*）线性关系良好，标准曲线方程为 A=15.163c − 12.96，R^2=0.999 9。低、中、高 3 种质量浓度的 **1** 溶液日内 RSD 分别为 0.66%、0.75%、0.53%，日间 RSD 分别为 0.76%、0.51%、0.63%，回收率分别为 99.33%、99.05%、99.21%。由此可见，该法的专属性、精密度、回收率等均满足试验要求。

测得各样品中的 **1** 质量浓度后，照下式计算载药量及包封率。

载药量 =（微球中药物质量 / 微球总质量）×100%

包封率 =（实际载药量 / 理论载药量）×100%

2.2.5 微球表面和内部形态

取适量干燥微球样品或在液氮中切微球样品，将其固定在导电胶上，真空条件下喷金后于 SEM

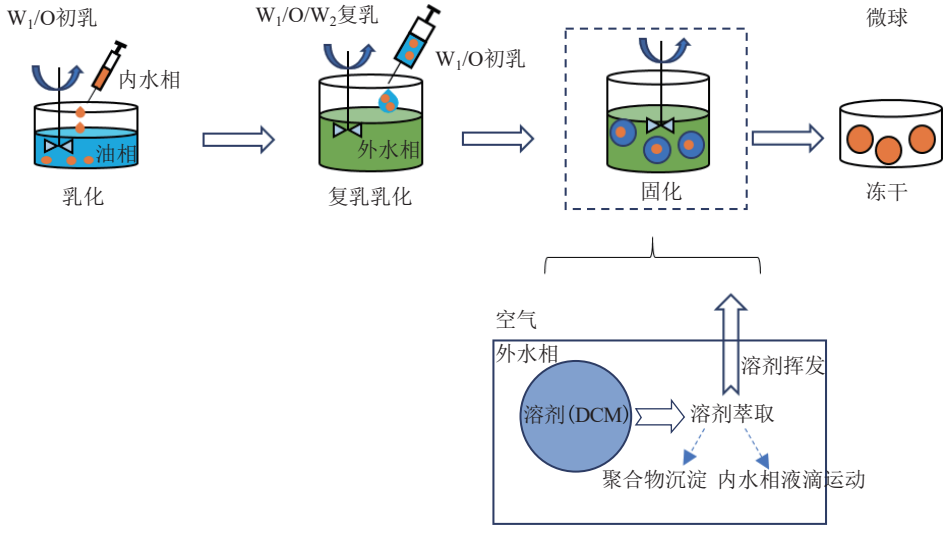


图 1 $W_1/O/W_2$ 型复乳化 - 溶剂挥发法制备 1 微球流程示意图

Fig.1 Schematic Diagram of Preparation Procedure for **1** Microspheres by $W_1/O/W_2$ Emulsion-solvent Evaporation Method

观察微球表面及内部形态。

2.2.6 微球中甘露醇含量

精密称取 **1** 微球 3 份，每份 100 mg，分别置 5 mL 量瓶中，加入乙腈 2 mL 超声至溶解，加 50% 乙腈水溶液定容，混合均匀后超声 2 min，离心（16 060×*g*）10 min，取上清液为供试品溶液，采用 HPLC 法测量甘露醇浓度。

色谱条件[8]：色谱柱 NH_2 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 80% 乙腈水溶液；流速 1 mL/min；柱温 25 ℃；雾化温度 30 ℃；检测器 蒸发光散射检测器（ELSD）；蒸发温度 65 ℃；N_2 流量 1.6 L/min；进样量 50 μL。

在该色谱条件下，甘露醇的保留时间是 8.3 min。甘露醇质量浓度（*c*）为 50 ～ 300 μg/mL 时与峰面积（*A*）线性关系良好，标准曲线方程为 *A*=0.785 8*c* − 6.565 5，R^2=0.999 2；日内及日间 RSD 分别为 1.9%、2.2%，均小于 5%，表明该法的专属性、精密度等均满足试验要求。

2.2.7 体外释放

参考文献[9]进行体外释放评价。精密称取 **1** 微球样品 3 份，每份 20 mg，分别置 20 mL 具塞离心管中，以 5% 甲醇水溶液 5 mL 为释放介质，在 45 ℃水浴、转速 50 r/min 条件下进行试验。分别于 2 h 及 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 d 时取出离心管，离心（6 158×*g*，4 ℃）30 min，取上清液 4 mL（同时补充同温等量释放介质），涡旋混匀后放回振荡器中振荡，照“**2.2.4**”项下色谱条件检测质量浓度，并计算累积释药率。

2.3 工艺条件对微球性质的影响

采用单因素法考察油水比、固化温度和外水相中甘露醇浓度对微球性质的影响。照表 1 中所示处方以“**2.1**”项下方法制备 **1** 微球。

2.3.1 油水比对微球性质的影响

取固化过程中的湿微球，按“**2.2.2**”项下方法检测，表征不同油水比处方（A、B、C 组）湿微球中 DCM 的变化趋势。结果显示，A 组湿微球中 DCM 含量高于 B、C 组，即随油水比的增加，溶剂扩散速度下降（图 2a）。推测原因是高油水比处方中油相体积更大，导致外水相中溶剂浓度更高，不利于溶剂的扩散。B、C 组湿微球中的 DCM 含量相近，可能的原因是二者外水相中 DCM 的浓度均未饱和，微球中 DCM 的扩散速率较快且相近。

按“**2.2.3**”“**2.2.4**”项下方法测量 A、B、C 组 **1** 微球的粒径、载药量和包封率，结果如表 2 所示。油水比由 1 ∶ 50 减小至 1 ∶ 100 时，**1** 微球的包封率显著提高，分别为 21.9% 和 72.2%；而油水比为 1 ∶ 150 时，**1** 微球的包封率为 74.7%，与油水比为 1 ∶ 100 时无明显差异。这可能是由于 B、C 组湿微球固化过程中的 DCM 去除速率较快且相近，液滴黏度迅速增高，减少了 **1** 向外水相的扩散[4]。不同油水比 **1** 微球的粒径无明显差异。

按“**2.2.5**”项下方法表征 A、B、C 组 **1** 微球的表面和内部形态。结果如图 2c 所示，油水比对 **1** 微球的表面及内部形态具有明显影响。A 组 **1** 微球表面及内部的孔洞数量相对较少，但孔径较大，而孔洞之外的结构光滑致密；B、C 组 **1** 微球表面及内部呈细小多孔状。

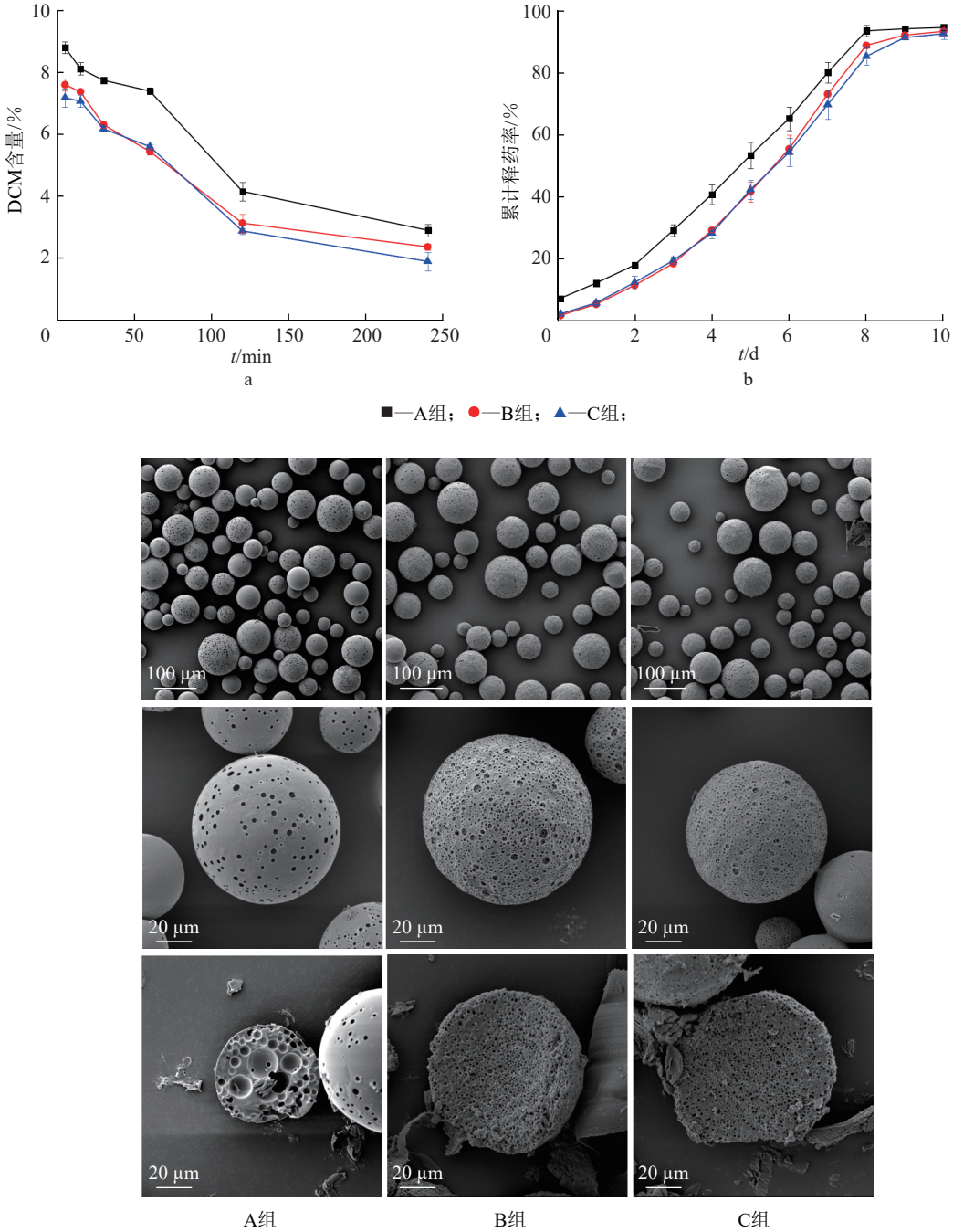
按“**2.2.7**”项下方法考察 A、B、C 组 **1** 微球的体外释放行为，结果如图 2b 所示。3 组 **1** 微球均具有缓释特征，在释放 10 d 时累积释药率均 >

表 1　1 微球的处方和工艺参数

Tab.1　Formulation and Process Parameters of **1** Microspheres

项目	处方编号						
	A	B	C	D	E	F	G
1/g	0.200	0.100	0.067	0.100	0.100	0.100	0.100
PLGA/g	1.8	0.9	0.6	0.9	0.9	0.9	0.9
去离子水/mL	1.00	0.50	0.33	0.50	0.50	0.50	0.50
DCM/mL	9.0	4.5	3.0	4.5	4.5	4.5	4.5
油水比	1∶50	1∶100	1∶150	1∶100	1∶100	1∶100	1∶100
外水相甘露醇浓度/%	0	0	0	0	0	0.5	2
固化温度/%	25	25	25	5	35	25	25

90%，且油水比对微球的释药行为有明显影响。A组 **1** 微球 2 h 的初始释药率达 7.55%，B、C 组 **1** 微球的初始释药率显著降低，分别为 2.04%、2.51%，可能是由于在固化过程中高油水比 **1** 微球溶剂去除慢，影响了乳液液滴形态的变化，使微球形成较大的孔洞，导致药物更易于扩散至释放介质，初始释药速率快[10]；释放后期，各组 **1** 微球的释放无明显差异，可能是因为后期释药机制主要是 PLGA 的



a—湿微球中 DCM 含量变化曲线（n=3）；b—微球体外释放曲线（n=3）；c—微球的表面（×500）及内部（×2 000）形态。

图 2　油水比对 1 微球性质的影响

Fig.2　Effects of Oil-water Phase Volume Ratios on Characteristics of **1** Microspheres

降解[11]。

表 2　不同处方制备 1 微球的性质（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.2　Characteristics of the Microspheres Prepared by Different Formulations ($\bar{x}\pm s$, n=3)

处方	载药量/%	包封率/%	粒径/μm		
			d(0.1)	d(0.5)	d(0.9)
A	2.19±0.10	21.9±1.0	37.5±0.2	56.0±0.2	83.7±0.2
B	7.22±0.23	72.2±2.3	43.4±0.3	71.8±0.1	116.0±0.4
C	7.47±0.25	74.7±2.5	44.6±0.1	71.9±0.2	113.0±0.3
D	7.28±0.26	72.8±2.6	47.0±0.2	72.9±0.3	111.0±0.6
E	6.66±0.11	66.6±1.1	47.0±0.3	69.7±0.1	103.0±0.5
F	6.49±0.20	64.9±2.0	43.5±0.3	68.6±0.2	108.0±0.3
G	5.49±0.10	54.9±1.0	41.2±0.2	65.8±0.3	105.9±0.1

为进一步了解微球形成和溶剂去除速率对微球形态影响的机制，按“**2.2.1**”项下方法考察了不同溶剂去除速率下湿微球固化过程中液滴形态的变化，结果如图 3 所示。由于 DCM 的快速去除，B、C 组 **1** 微球固化 0.5 min 时液滴边缘呈致密状，液滴内部因 PLGA 的析出，阻碍了内水相液滴的聚集，且之后液滴内部结构无明显变化；而 A 组 **1** 微球固化 0.5 min 时液滴仍呈油状，液滴内部的水相微液滴逐渐聚集、合并，使体积增大，因此，所得微球冻干后形成内部孔洞较大的结构，与 SEM 观察到的结构形态相符。

2.3.2　固化温度对微球性质的影响

取固化过程中的湿微球，按“**2.2.2**”项下方法检测，表征不同固化温度处方（B、D、E 组）湿微球中 DCM 的变化趋势。固化开始时，因采用相同的乳化温度，3 组湿微球中 DCM 浓度基本一致；随固化的进行，较高固化温度湿微球中 DCM 含量显著降低，原因可能是固化温度升高使 DCM 在外水相中溶解度提高[6]，促进微球中 DCM 萃取至外水相（图 4a）。

按“**2.2.3**”“**2.2.4**”项下方法测量 B、D、E 组 **1** 微球的粒径、载药量和包封率。不同固化温度所制备微球粒径相近，包封率随温度升高略有降低（表 2）。这可能是由于随温度升高，DCM 溶解度增加，药物可能更易随溶剂由液滴内部被萃取至外水相，

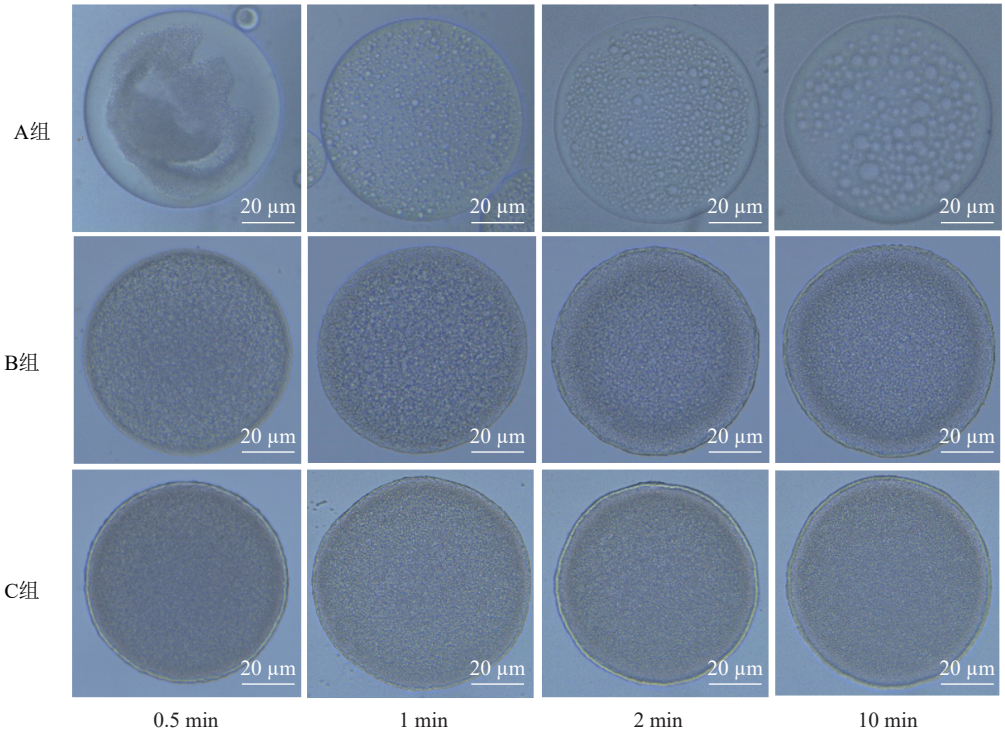


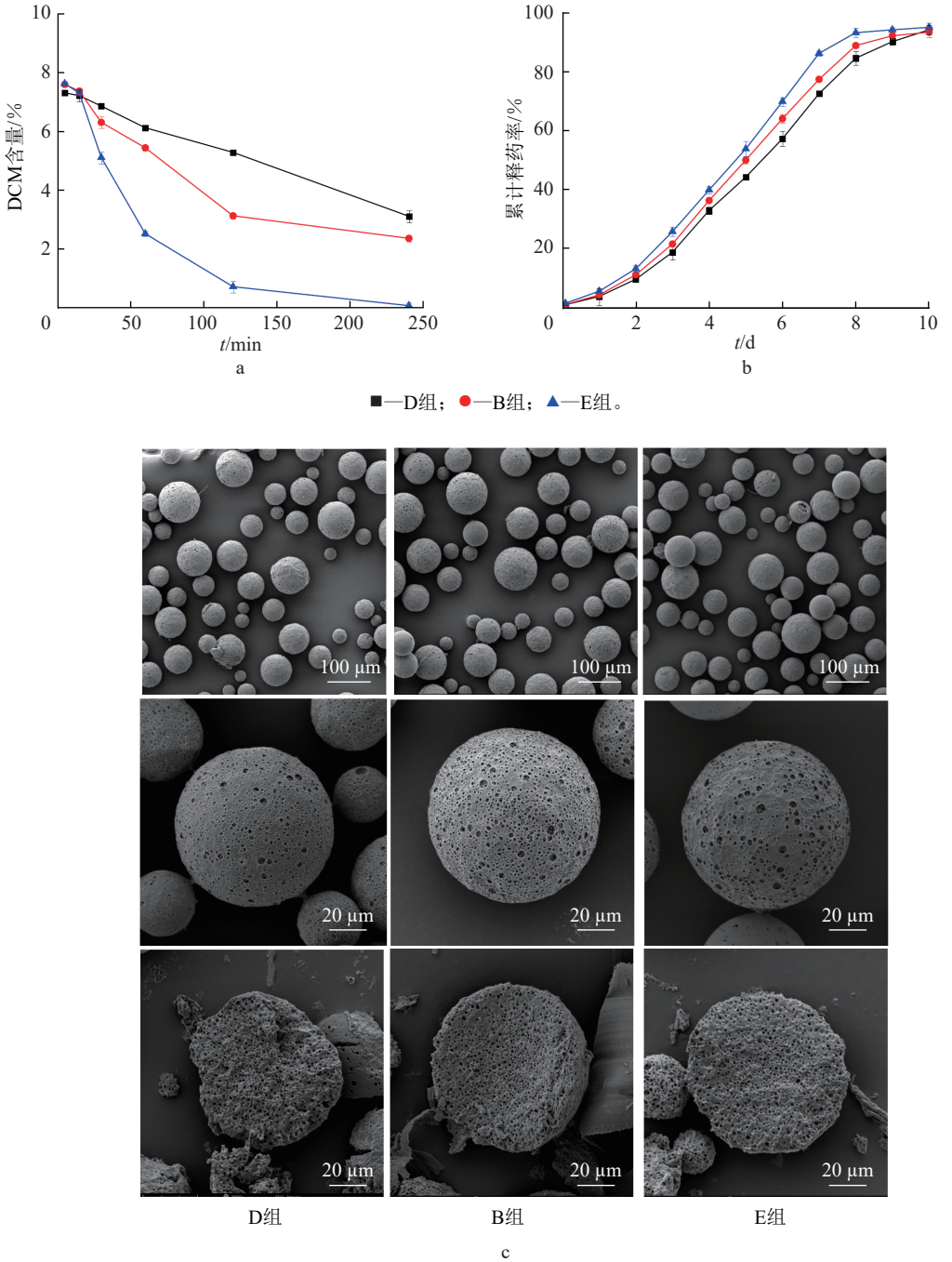
图 3　不同油水比处方制备的湿微球在不同固化时间时的液滴形态（×1 000）

Fig.3　Microdroplets Morphology of Wet-microsphere Prepared with Different Oil-water Phase Volume Ratios Formulations at Different Solidification Time (×1 000)

造成药物泄露增加。

按“**2.2.5**”项下方法表征 B、D、E 组 **1** 微球的表面和内部形态。结果显示，3 组 **1** 微球的表面及内部形态无明显差异，微球表面及内部均呈细小多孔状（图 4c），这可能是由于复乳乳化时大部分溶剂瞬时去除，微球结构已基本形成[4]。

按“**2.2.7**”项下方法研究 B、D、E 组 **1** 微球的体外释放。结果显示，各组 **1** 微球体外释放均显



a

b

■—D组；●—B组；▲—E组。

c

a—湿微球中 DCM 含量变化曲线（n=3）；b—微球体外释放曲线（n=3）；c—微球的表面（×500）及内部（×2 000）形态。

图 4 固化温度对 1 微球性质的影响

Fig.4 Effect of Solidification Temperature on Characteristics of **1** Microspheres

示出明显的缓释特征，2 h 初始释药率均小于 3%；随固化温度升高，微球的释药速率略有增加（图 4b）。释药速率的变化可能是由于微球中药物分布不同造成的，固化温度上升，DCM 溶解度增加，药物随溶剂扩散至微球近表层，导致释药速率增加[12]。

2.3.3 外水相甘露醇浓度对微球性质的影响

取固化过程中的湿微球，按“**2.2.2**”项下方法检测，表征不同甘露醇浓度处方（B、F、G 组）湿微球中 DCM 的变化趋势。如图 5a 所示，外水相加入甘露醇后，湿微球中 DCM 含量增高，表明微球中 DCM 的扩散速率降低，这可能是由于加入甘露醇后外水相的渗透压增加（0.5%和 2%甘露醇溶液的渗透压分别为 30 和 114 mOsm/kg），使液滴中 DCM 向外水相的扩散速率降低。

按“**2.2.3**”“**2.2.4**”项下方法测量 B、F、G 组 **1** 微球的粒径、载药量和包封率。结果显示，外水相加入甘露醇后微球的包封率显著降低（表 2），但微球的粒径无明显差异。这可能是由于加入甘露醇后，溶剂去除速率降低，微球固化减慢，导致药物易扩散到外水相中。

按“**2.2.5**”项下方法表征 B、F、G 组 **1** 微球的表面和内部形态。结果显示，外水相加入甘露醇后微球表面及内部结构致密，孔洞数量和孔径减小（图 5c）。推测原因是溶剂去除较慢，使聚合物析出缓慢，进而形成致密结构；并且加入甘露醇提高了外水相的渗透压，使乳滴内水相微液滴在高渗作用下易于向外水相扩散而非在液滴内部聚集，所以造成内部孔洞减少。

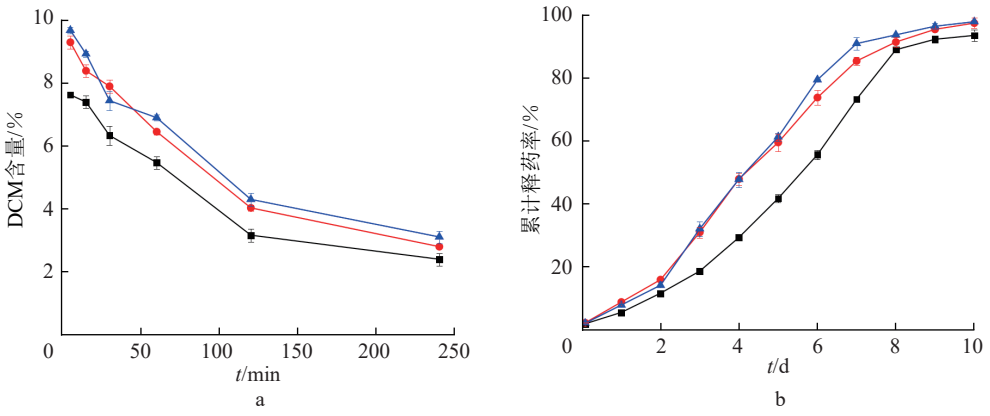
采用合适的表征方法将工艺条件的变化表现在微球的性质上，将有助于全面系统的了解二者之间的关联性，其中药物的分布可以揭示部分工艺条件对微球释药行为的影响机制[12]。按“**2.2.6**”项下方法检测 B、F、G 组 **1** 微球中甘露醇含量。结果显示，F、G 组 **1** 微球的甘露醇含量分别为 0 和 0.014%，表明 **1** 微球中几乎不含甘露醇。**1** 微球中的水溶性物质仅为 **1**，加入适量水溶解 **1** 微球表面药物，采用 SEM 观测水处理前后微球的形态以表征微球中药物的分布。如图 6 所示，F、G 组 **1** 微球经水处理后出现大量孔洞，系药物溶解，在微球的表面留下孔洞[13]。形成这些“充满药物的通道”的机制可能是：加入甘露醇使外水相的渗透压增加，在液滴固化形成微球的过程中，含有水溶性药物的内水相液滴在高渗作用下向微球近表面扩散，并且由于溶剂去除速率较慢，微球固化速度慢，药物有较长的时间从液滴内部向近表面扩散。

按“**2.2.7**”项下方法研究 B、F、G 组 **1** 微球的体外释放，结果显示，F、G 组 **1** 微球的 2 h 初始释药率分别为 2.34%、2.19%，与 B 组无明显区别，但随时间增加，F、G 组 **1** 微球释药速率明显增加（图 5b）。推测原因是：虽然外水相加入甘露醇使微球结构致密且孔洞较少，但同时包载药物的内水相微液滴易向微球表层扩散，使药物在释放初始阶段更易扩散至释放介质中。在释药后期，这种致密的结构可导致微球内部酸性降解产物不易扩散，在自催化效应下聚合物更快降解，加速药物释放[11]。

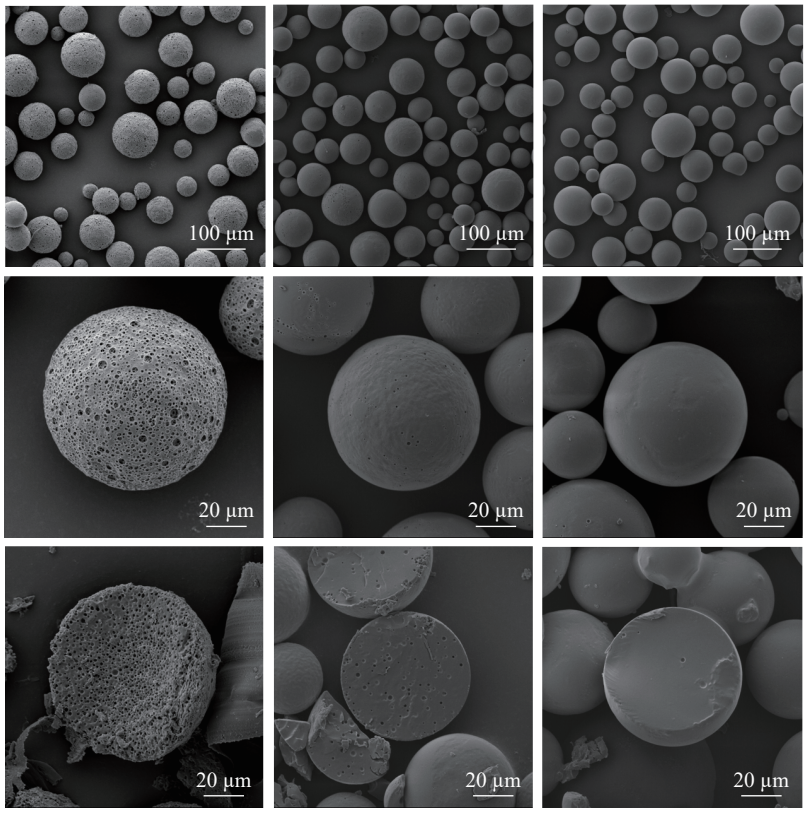
3 讨论

本研究通过监测固化过程中的关键质量属性，即微球中 DCM 的含量，探讨了溶剂去除速度对微球性质的影响，并深入研究了微球制备过程的关键步骤之一，固化工艺，对微球性质的影响及其机制。结果显示，油水比增高，微球内溶剂去除减慢，使乳液液滴内部水相微液滴更易聚合，微球中会形成较大的孔洞而加速药物的初始释放；固化温度对微球固化过程中溶剂去除速率有影响，对微球形态无明显影响；外水相加入甘露醇后，溶剂去除速率因渗透压作用而减慢，且在高渗作用下，内水相微液滴更易向外水相扩散，使微球结构更加致密且形成“充满药物的通道”，影响微球的释药行为。

本研究将固化工艺参数的变化体现在最终微球的性质上，为探究固化工艺对微球性质的影响及机制提供了依据。值得注意的是，固化温度对固化过程中微球内部物质运动的影响仍有待进一步研究。日后本课题组将继续研究其他关键工艺步骤，探索微球制备微观“盲区”，为微球制剂的研究开发提供依据。



■—B组；●—F组；▲—G组。



a—湿微球中 DCM 含量变化曲线（n=3）；b—微球体外释放曲线（n=3）；c—微球的表面（×500）及内部（×2 000）形态。

图 5 甘露醇浓度对微球性质的影响

Fig.5 Effect of Mannitol Concentration in the External Water Phase on Characteristics of the Microspheres

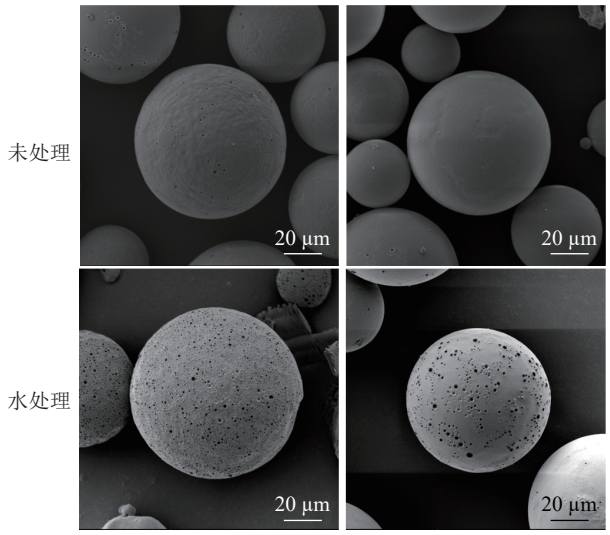


图 6　经水处理前后不同甘露醇浓度处方 1 微球的表面形态照片（×2 000）

Fig.6　Surface Morphologic Images of **1** Microspheres with Different Mannitol Concentrations before and after Aqueous Treatment (×2 000)

参考文献：

[1] PARK K, SKIDMORE S, HADAR J, *et al*. Injectable, long-acting PLGA formulations: analyzing PLGA and understanding microparticle formation [J]. *J Control Release*, 2019, **304**: 125-134.

[2] 魏利军. 特殊注射剂的发展现状与市场概况[J]. 药学进展, 2018, **42**(12): 9.

[3] SHI N Q, ZHOU J, WALKER J, *et al*. Microencapsulation of luteinizing hormone-releasing hormone agonist in poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres by spray-drying [J]. *J Control Release*, 2020, **321**: 756-772.

[4] PARK K, OTTE A, SHARIFI F, *et al*. Formulation composition, manufacturing process, and characterization of poly(lactide-co-glycolide) microparticles [J]. *J Control Release*, 2021, **329**: 1150-1161.

[5] ZHOU J, WALKER J, ACKERMANN R, *et al*. Effect of manufacturing variables and raw materials on the composition-equivalent PLGA microspheres for 1-month controlled release of leuprolide [J]. *Mol Pharm*, 2020, **17**(5): 1502-1515.

[6] 韩　蕾, 潘　峰, 陈庆华. 有机溶剂移除工艺对微球性质及药物释放的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2010, **41**(9): 692-697.

[7] WEI Y, WANG Y X, WANG L Y, *et al*. Fabrication strategy for amphiphilic microcapsules with narrow size distribution by premix membrane emulsification [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2011, **87**(2): 399-408.

[8] 郭宁子, 张伊洁, 许明哲, 等. 多肽微球注射剂中甘露醇含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2020, **40**(6): 999-1004.

[9] WANG T T, XUE P, WANG A P, *et al*. Pore change during degradation of octreotide acetate-loaded PLGA microspheres: the effect of polymer blends [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, **138**: 104990.

[10] LIU J, REN H, XU Y, *et al*. Mechanistic evaluation of the opposite effects on initial burst induced by two similar hydrophilic additives from octreotide acetate-loaded PLGA microspheres [J]. *J Pharm Sci*, 2019, **108**(7): 2367-2376.

[11] FREDENBERG S, WAHLGREN M, RESLOW M, *et al*. The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems—a review [J]. *Int J Pharm*, 2011, **415**(1/2): 34-52.

[12] BUTREDDY A, GADDAM R P, KOMMINENI N, *et al*. PLGA/PLA-based long-acting injectable depot microspheres in clinical use: production and characterization overview for protein/peptide delivery [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(16): 8884.

[13] LUAN X S, SKUPIN M, SIEPMANN J, *et al*. Key parameters affecting the initial release(burst) and encapsulation efficiency of peptide-containing poly(lactide-co-glycolide) microparticles [J]. *Int J Pharm*, 2006, **324**(2): 168-175.