

## 聚乳酸-羟基乙酸载药微球制备工艺研究进展

韩斐<sup>1,2</sup>, 胡懿邨<sup>1</sup>, 汪龙<sup>1</sup>

1. 中南大学湘雅医院骨科, 湖南 长沙 410078; 2. 新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830000

**【摘要】**聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)作为一种具有良好生物相容性的可降解功能高分子化合物,在生物医学领域中展现了其重要作用。以PLGA为材料制备载药微球的方法有乳化溶剂挥发法、相分离法、盐析法、喷雾干燥法、膜乳化法、纳米沉淀法、超临界流体技术等。通过查阅国内外文献,总结PLGA载药微球各种制备技术的原理及优缺点,以及各方法近年来的研究进展。

**【关键词】**聚乳酸-羟基乙酸;载药微球;制备;综述

**【中图分类号】**R94

**【文献标识码】**A

**【文章编号】**1005-202X(2016)01-0092-06

## Preparation technique of drug-loaded microsphere by using poly lactic-co-glycolic acid

HAN Fei<sup>1,2</sup>, HU Yi-he<sup>1</sup>, WANG Long<sup>1</sup>

1. Department of Orthopedics, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410078, China; 2. Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

**Abstract:** As a well biocompatible and biodegradable polymer, poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) is very important in the biomedical field. The measures for preparing microsphere by using PLGA includes emulsion- solvent evaporation, phase separation, salting-out method, spray drying method, membrane emulsification, nanoprecipitation, supercritical fluid technology and so on. The principle, advantage and disadvantage, and research progress of mentioned techniques were summarized by analyzing domestic and foreign literatures.

**Key words:** poly lactic-co-glycolic acid; drug-loaded microsphere; preparation; review

### 前言

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(Poly Lactic-co-Glycolic Acid, PLGA)是由两种单体——乳酸(LA)和羟基乙酸(GA)随机聚合而成,是一种可降解的功能高分子有机化合物。PLGA水解以后的产物是乳酸和羟基乙酸,可参与人体的新陈代谢,最终形成二氧化碳和水被排出体外,因此PLGA无毒,反复给药以后不会在体内蓄积,可以作为一种良好的药物缓释载体、组织工程支架材料等应用于生物医学领域<sup>[1]</sup>。美

国食品药品监督管理局(FDA)已经认定PLGA具有良好的生物相容性和安全性,被广泛应用于人类的临床医学研究<sup>[2-4]</sup>。PLGA作为药物载体的制备方法较为多样,其中以乳化溶剂挥发法简便实用而最为常用,相分离法、盐析法、喷雾干燥法、膜乳化法、纳米沉淀法、超临界流体技术等方法也各有其优点而常被研究者们所选择。以下对各种方法进行综述,以期为医药领域中更多PLGA微球的研究应用提供参考。

### 1 乳化溶剂挥发法

乳化溶剂挥发法分为单乳法和复乳法,是制备微球最常用的方法,其原理是将不相混溶的两种液体通过机械搅拌或超声乳化方式制成乳剂,被分散成乳滴的液体为内分散相,分散乳滴的液体为外连续相,内分散相溶剂挥发除去,成球材料析出,固化成微球,内分散相的溶剂必须在外连续相中具有一

**【收稿日期】**2015-07-24

**【基金项目】**湖南省自然科学基金重点项目(12JJ2055);湖南省卫生计生委科研基金(132015-005)

**【作者简介】**韩斐(1991-),硕士研究生。Tel: 18692236637; E-mail: 1103835099@qq.com。

**【通信作者】**胡懿邨(1964-),博士生导师,教授,研究方向:关节外科。Tel: 13973184558; E-mail: csuhuyihe@163.com。

定的溶解度和挥发性。按制备时乳状液的类型,可分为O/W(水包油)、W/O(油包水)、W/O/W、O/W/O等类型。

### 1.1 单乳法

O/W(水包油)的乳化过程是单乳法的典型,适用于封装疏水性药物。首先将适量的PLGA溶于与水不相溶的、易挥发的有机溶剂(如二氯甲烷、乙酸乙酯)中,以此制备出单相溶剂。将颗粒大小在20~30  $\mu\text{m}$ 的疏水性药物加到溶液中产生混合溶液。将混合溶液加入到含有乳化剂的大量水中,在适当的温度和搅拌速度下进行乳化。内分散相溶剂不断向外相扩散,转运至液面并挥发到空气中。萃取-挥发-萃取过程反复进行,使内分散相中载体材料析出形成囊膜,将药物包裹其中,直到微球完全固化为止<sup>[5-8]</sup>。陈玉玺等<sup>[9]</sup>应用单乳法,对各步骤进行了优化选择后,制备的20(S)-原人参二醇PLGA载药微球外观圆整,平均粒径约1.16  $\mu\text{m}$ ,包封率41.76%,载药量达19.61%,且具有良好的缓释效果。单乳法乳化溶剂挥发法制备微球简单易操作,但不能满足所有药物的微囊化。

### 1.2 复乳法

与单乳法不同,W/O/W复乳化方法最适用于封装亲水性药物,如多肽、蛋白质、疫苗等。首先,取适量的药物溶解于水相,然后将药物溶液添加到由PLGA与二氯甲烷(DCM)或氯仿组成的有机相中,通过搅拌形成油包水型初乳液。然后,将此初乳加入到聚乙烯醇(PVA)水溶液中,在适当的压力混合条件下进一步制备成复乳。再用同单乳法的方法使有机溶剂从中蒸发或萃取出来。在复乳法中,溶剂的选择和搅拌速度是影响最终PLGA微球包封率和粒径的主要因素<sup>[6, 10-11]</sup>。其主要缺点是需要控制的变量多,工艺放大较为困难,主要用于实验室研究。

### 1.3 改良乳化溶剂挥发法

改良乳化溶剂挥发方法由Murakami等<sup>[12]</sup>首次报道用于制药,将PLGA溶于丙酮与乙醇的混合溶液,取代了传统方法中常用的丙酮、DCM混合溶液。这样微球制备过程中既不使用DCM,降低了毒性,又不使用高能设备如均质仪、超声乳化设备等,因此聚合物纳米粒子的大规模制备成为可能<sup>[13]</sup>。近年来,各种改良乳化溶剂挥发法制备微球的报道也比较多。Shahani等<sup>[14]</sup>采用真空快速溶剂挥发法制备姜黄素PLGA微球,载药量从1%增加到38%,并减少了药物在微粒表面的结晶化量。Gupte等<sup>[15]</sup>采用改良溶剂

挥发法制备了紫杉醇微球,包封率高达90%。乳化溶剂挥发法具有包封率高、操作方法简便、重现性好、无需特殊的设备等优点<sup>[16]</sup>。其既不需要提高温度,也不需要相分离剂,是从溶液液滴中相分离形成聚合物壳,制备出微球,可将尺寸控制在纳米范围内,长期以来受到研究者们的青睐并多用于实验室研究,但是其制备过程不连续,需要控制的变量多,材料的性能及制备过程都会影响微球的表面特征及释放速率,所以大多停留在实验室研究阶段,不利于大规模产业化,而且在形成微乳过程中使用的有机溶剂是对环境和健康有害的物质,因此,发展安全、经济、健康、可控的微球制备技术还需要做大量的研究。

## 2 相分离法(凝聚法)

相分离法是通过液-液相分离技术来封装药物的过程,对封装亲水性和疏水性药物均适用。在药物与PLGA的混合溶液中,改变条件,产生新相(凝聚相),固化而形成微球。主要包括以下3个步骤<sup>[17-19]</sup>: (1)PLGA壁材溶液的相分离;(2)药物颗粒的凝聚吸附;(3)微球的萃取。将PLGA与溶剂以适当的比率进行混合制备成溶液,亲水性药物如多肽、蛋白质等溶于水后分散在PLGA溶液里(W/O型乳液),疏水性药物如类固醇等可直接溶解或分散于PLGA溶液(O/W型乳液)。将有机媒介逐渐加入PLGA-药物混合液中并进行搅拌,凝聚相小胶滴被药物微粒表面吸附,环绕于其周围流动,并逐渐絮聚成凝聚体层,将药物微粒包裹于其中,微粒粒径的大小可通过改变系统的搅拌速度及温度来控制。然后将其迅速加入到不溶的萃取液中萃取得到微球,再通过洗涤、筛分、过滤、离心或冷冻干燥等方法收集微球。在此过程中,PLGA浓度、萃取温度、萃取时间和溶剂成分是影响微球形态及大小的主要因素。相分离法曾用来制备毫米级的生物可降解高分子聚合物。有研究采用改良的相分离法制备PLGA载药微球,以石油醚代替二甲基硅氧烷作为凝聚剂,得到了粒径<10  $\mu\text{m}$ 、包封率>80%的PLGA微球<sup>[20]</sup>。相分离法发展较早,比较成熟,但容易受残留溶剂及凝聚剂的影响,且微球粒径大小与均一性控制方面仍有不足,有待于进一步研究。

## 3 盐析法

盐析法的原理与相分离法相似,主要是通过盐析的作用将水溶性溶剂从水溶液中分离<sup>[21-24]</sup>,适合于

封装亲水性药物。首先制备出含有PLGA、溶剂(通常不含氯,如丙酮)、盐(如醋酸镁、六水氯化镁)以及稳定剂的油包水乳液。然后向溶液中加水直至达到其量足以使丙酮扩散至水中,随之析出PLGA微球,溶剂和盐析剂通过过滤法除去。该法的主要优点是包封率与产率较高,比较容易放大,且不使用有毒的含氯溶剂。但需要对产物进行纯化,以减少盐析剂的残留。目前多用此法与乳化溶剂挥发法联合制备PLGA微球<sup>[25-29]</sup>,可制备出纳米级微粒且拥有较好的包封率。

#### 4 喷雾干燥法

乳化技术需要对加工过程中的各项参数精确掌控,以便于提高包封率。而相分离技术则趋向于加工凝聚的微球,需要移除微球中大量的有机相。无论是以上哪种方法,都不适合大量的加工微球。然而,喷雾干燥法却因其快速、方便、步骤参数简单等优势而更适合于工业上大批量的生产,对亲水性及疏水性药物均适用。使用喷雾干燥法制备药物/蛋白/多肽加载的微球需先将加载的成分制备成W/O的乳浊液或S/O(油包固体)的悬浊液,再将制备好的混合物通过雾化器将其雾化分散成极小的液滴,喷入热气流中后干燥、硬化、收集。溶剂性质、蒸发温度、喷雾速度等将影响微球的制备形态,其中溶剂的选择需根据所封装药物的性质而做决定。DCM是最常用的溶剂之一。Hao<sup>[30]</sup>采用DCM-甲醇混合溶剂,制备了水溶性药物盐酸头孢噻唑PLGA微球,微球形态良好,载药率达23.06%,最大包封率达92.23%。Wang等<sup>[31]</sup>采用乙酸乙酯和酒精作为溶剂制备依他硝唑PLGA微球,并与DCM制备的微球进行比较,结果显示使用DCM-乙酸乙酯混合溶剂时,EA含量的增加可缓解突释现象,降低药物释放速率;所制微球成圆环形,表面光滑。喷雾干燥法因可以将各类药物/蛋白/多肽等包埋至微球中,并能很好地保留药物活性而被大家所认可,除了上述优点外,制备的微球粘附到喷雾干燥器内壁却是该方法一个很大的不足。对此,有很多学者进行过相关的研究报道<sup>[32-35]</sup>。近年来,同轴毛细流动技术被运用在单分散的微球和纳米粒的制备过程中,其能精确地控制微粒的平均大小<sup>[36-37]</sup>,通过该技术实现对喷雾方向、速率和溶剂萃取率等制备参数的可控。此外,微流体设备的应用消除了静电的相互作用而使微粒的大小和形状的控制成为可能<sup>[38]</sup>,改变

了传统喷雾干燥法粒径均一性较差的缺点。总体而言,喷雾干燥法因一步成囊,简便快捷,制备出的微球粒径小,且可批量生产等优势而备受青睐,是微球制备工业化最有希望的途径之一<sup>[39]</sup>。值得注意的是,喷雾干燥法因对温度要求较为严格,不适宜温度敏感的化合物的微囊化。

#### 5 膜乳化法

膜乳化技术可以追溯到20世纪80年代末,Nakashima等<sup>[40-41]</sup>制造了一种特殊的硅砂多孔玻璃膜,并提出膜乳化方法,因其制备出的微球粒径均一性良好而受到研究者的青睐。膜乳化的原理是使连续相在膜表面流动,将分散相在外加压力作用下通过微孔膜的膜孔在膜表面形成液滴,当液滴的直径达到某一值时就从膜表面剥离进入连续相,此时溶解在连续相里的稳定剂分子将吸附到液滴界面上,形成微乳滴。膜乳化法可制备出粒径均一可控的微球,药物包封率较高,且器械强度小、能耗低,但很难制备1 μm以下的微囊。近年来一些研究在此方法基础上发展了快速膜乳化法,先制备预乳液,方法与乳化溶剂挥发法相似,如疏水性药物制备成O/W型预乳液,亲水性药物制备成W/O/W型预复乳液,然后将预乳液在较高压力下压过粒径均一的膜孔,多次过膜并稳定,最后固化成球,在微球粒径方面取得了突破,并且均一可控,拥有较好的包封率。田瑞等<sup>[42]</sup>运用快速膜乳化法,在过膜压力1000 kPa,过膜次数3次,外水相稳定剂聚乙烯醇浓度19 g/L,油/水体积比1:5的条件下,制备出了粒径在350 nm左右的PLGA微球,粒径多分散系数小于0.050。同法制备得到了包埋胰高血糖素样肽-1(GLP-1)的大分子量PLGA微球,载药率3.5%,包封率可达65%以上,活性保留85%以上,可在20 d内持续释放,释放率可达80%以上。曾焱婧等<sup>[43]</sup>用此方法制备的PLGA载紫杉醇微球粒径在0.987 μm左右,包封率为71.6%,载药率为4.93%,在磷酸盐缓冲液中释放60 d后,PLGA微球的药物释放率为83.87%。在快速膜乳化过程中,大乳滴被破碎成小乳滴,有很多新界面生成,新形成的界面必须有足够多的稳定剂(如PVA)来补充,才能有效防止小乳滴重新聚并成大乳滴,因此足够量的外水相稳定剂是保证乳液最终均一性的必要条件<sup>[44]</sup>。此外,SPG膜的膜孔径对微球的粒径大小起到关键性的作用。膜孔径越小,则制备出的微球粒径越小,均一性越好,反之则粒径较大且均一性



差。但是随着微球粒径的减小,载药率的低下成为本方法的突出问题,仍有待于进一步研究。

## 6 纳米沉淀法

沉淀法制备纳米药物是通过有机相与水相混溶时产生的界面扰动现象和溶剂体系的转换使聚合物包裹药物形成纳米微粒,并随溶剂的挥发而不断向界面迁移、沉淀<sup>[45-46]</sup>,适合于封装疏水性药物。将药物与PLGA溶解在丙酮中,然后加入到含有普朗尼克F68(聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物)的水溶液中。丙酮在适宜的温度和减压的条件下挥发,剩下包裹药物的PLGA纳米粒<sup>[47]</sup>。有研究显示,液下注入方式比液上滴加方式对纳米粒的粒径分布及成型更有利,可制得粒径分布均匀的纳米粒<sup>[48]</sup>。Alshamsan等<sup>[49]</sup>发现,在利用PLGA封装葫芦素的过程中,纳米沉淀法的包封率明显优于乳化溶剂挥发法,这可能是因为在乳化溶剂挥发法中,乳化之后药物从内油相中扩散到外水相,从而致使PLGA微球的包封率降低,而用纳米沉淀法制备则结果相对较好。Niu等<sup>[50]</sup>运用改良的纳米沉淀法以及乳化溶剂挥发法制备了载DNA-PLGA纳米粒,结果显示纳米沉淀法制备出的微粒粒径较小,形态均匀,包封率优于乳化溶剂挥发法,且DNA的结构完整性保留的更好。乳化溶剂挥发法使用毒性较大的有机溶剂,如DCM、氯仿等,给后续的药品开发和工业化生产带来困难;而纳米沉淀法可避免含氯溶剂的使用,减少对人体的伤害和对环境的污染,且操作简单,方便易行。但粒子载药量低是目前纳米给药系统存在的主要问题之一<sup>[51]</sup>。利用沉淀法制备具有较高载药量和包封率纳米粒的条件是药物与水亲和力差,与载体亲和力强,并且强于药物与有机相溶剂分子的亲和力,若不然,有机相溶剂向水相扩散的过程中,会将部分药物分子带出有机相,而随着有机溶剂的挥发,药物溶解度下降,随之析出。因此利用沉淀法制备纳米粒时,选择药物和载体材料以及溶剂系统是制备高载药量和高包封率纳米粒的前提条件。

## 7 超临界流体技术

### 7.1 超临界流体快速膨胀法(RESS)

超临界流体是一种具有与液体相近的密度和溶解能力,又兼有类似气体的粘度和高扩散系数的物质。RESS是将溶有溶质的超临界流体经过小孔,在极短的时间内减压膨胀,形成极高的过饱和度和以

音速传递的扰动,使得溶质瞬间形成大量晶核并生长,从而形成大量粒径均一的微粒的过程。CO<sub>2</sub>无毒无污染,临界温度和压力适中,化学性质稳定,是RESS中最常用的流体。但是PLGA在CO<sub>2</sub>中溶解度很低。Kongsombut等<sup>[52]</sup>借助乙醇共溶剂,显著增加了PLGA的溶解度,制备出粒径较小PLGA微球,为PLGA微球的制备提供了新思路。但遗憾的是RESS始终未能彻底摆脱它本身的局限性:极性药物在超临界CO<sub>2</sub>中的溶解性低,微粒的粘性使得其容易凝聚。超临界CO<sub>2</sub>也可以用来作为致孔剂,制备多孔PLGA微球<sup>[53]</sup>。通过等温减压作用,超临界CO<sub>2</sub>透过无定型高分子基质,膨胀从而形成多孔结构。

### 7.2 超临界流体乳剂萃取法(SFEE)

SFEE法制备过程简单,一般先将PLGA溶于有机溶剂,亲水性药物溶于水相,加入乳化剂形成乳状液,再通过控制气压、CO<sub>2</sub>和乳状液的流速来制备PLGA微球。Furlan等<sup>[54]</sup>运用SFEE制备出粒径在140~230 nm之间的PLGA微球。运用SFEE制备PLGA微球,可较好地控制微球的粒径与形态,过程高效、快捷,无溶剂残留,不需高温且萃取时间短。因为SFEE是一个持续的过程,该方法适合于在生物医学应用中制备大量的高质量粒子,具有良好的前景。

## 8 展望

结合以上内容,不难发现PLGA作为药物载体,已显现出优秀的载药能力。目前研究者通过不同的方法制备出PLGA载药微球,其较以往的方法在微球粒径、包封率、载药率、缓释能力等方面均取得了一定的进步,但依旧存在着很多不足,如每种方法各有优劣,发展参差不齐。针对以上不足,相信研究者将会进一步改进制备工艺,使PLGA的制备方法日趋完善。

## 【参考文献】

- [1] TOSI G, BORTOT B, RUOZI B, et al. Potential use of polymeric nanoparticles for drug delivery across the blood-brain barrier [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(17): 2212-2225.
- [2] BOUISOUS C, ROUSE J J, PRICE R, et al. The influence of surfactant on PLGA microsphere glass transition and water sorption: remodeling the surface morphology to attenuate the burst release [J]. *Pharm Res*, 2006, 23(6): 1295-1305.
- [3] JAIN R A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) devices [J]. *Bio-materials*, 2000, 21(23): 2475-2490.
- [4] RUHE P Q, HEDBERG E L, PADRON N T, et al. rhBMP-2 release from injectable poly (DL-lactic-co-glycolic acid)/calcium-phosphate cement composites [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2003, 85A

- (Suppl 3): 75-81.
- [5] ARSHADY R. Preparation of biodegradable microspheres and microcapsules: 2. polyactides and related polyesters[J]. J Controlled Release, 1991, 17(1): 1-21.
  - [6] KING T W, PATRICK C J. Development and *in vitro* characterization of vascular endothelial growth factor (VEGF)- loaded poly (DL-lactic-co-glycolic acid)/poly(ethylene glycol) microspheres using a solid encapsulation/single emulsion/solvent extraction technique [J]. J Biomed Mater Res, 2000, 51(3): 383-390.
  - [7] ROSCA I D, WATARI F, UO M. Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation[J]. J Controlled Release, 2004, 99(2): 271-280.
  - [8] SAH H. Microencapsulation techniques using ethyl acetate as a dispersed solvent: effects of its extraction rate on the characteristics of PLGA microspheres[J]. J Controlled Release, 1997, 47: 233-245.
  - [9] 陈玉玺, 王冰, 浦益琼, 等. 20(S)-原人参二醇聚乳酸-羟基乙酸缓释微球的制备[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 4-7.  
CHEN Y X, WANG B, PU Y Q, et al. Preparation of 20(S)-protopanaxadiol polylactic acid-glycolic acid sustained release microspheres[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2013, 19(6): 4-7.
  - [10] CHAISRI W, HENNINK W E, OKONOGI S. Preparation and characterization of cephalexin loaded PLGA microspheres[J]. Curr Drug Deliv, 2009, 6(1): 69-75.
  - [11] MAO S, XU J, CAI C, et al. Effect of WOW process parameters on morphology and burst release of FITC- dextran loaded PLGA microspheres[J]. Int J Pharm, 2007, 334(1-2): 137-148.
  - [12] MURAKAMI H, KOBAYASHI M, TAKEUCHI H, et al. Further application of a modified spontaneous emulsification solvent diffusion method to vKriou8 types of PLGA and PLA polymers for preparation of nanoparticles[J]. Powder Tech, 2000, 107: 137-143.
  - [13] 张勇, 袁超. 改良自乳化溶剂挥发法制备MePEG-PLGA纳米粒的研究[J]. 分析测试学报, 2008, 27(9): 960-963.  
ZHANG Y, YUAN C. Preparation of MePEG-PLGA nanoparticles by modified-self-emulsion solvent evaporation method[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2008, 27(9): 960-963.
  - [14] SHAHANI K, PANYAM J. Highly loaded, sustained-release micro-particles of curcumin for chemoprevention[J]. J Pharm Sci, 2011, 100(7): 2599-2609.
  - [15] GUPTA A, CIFTCI K. Formulation and characterization of Paclitaxel, 5-FU and Paclitaxel+5-FU microspheres[J]. Int J Pharm, 2004, 276(1-2): 93-106.
  - [16] 孙美丽, 班俊峰, 黄思玉, 等. PLGA微球载药量和包封率的影响因素及控制[J]. 广东药学院学报, 2011, 27(6): 643-648.  
SUN M L, BAN J F, HUANG S Y, et al. Control of encapsulation efficiency and drug loading in PLGA microsphere[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2011, 27(6): 643-648.
  - [17] THOMASIN C, NAM-TRAN H, MERKLE H P, et al. Drug micro-encapsulation by PLA/PLGA coacervation in the light of thermodynamics. 1. Overview and theoretical considerations [J]. Pharm Sci, 1998, 87(3): 259-268.
  - [18] THOMASIN C, MERKLE H P, GANDER B. Drug microencapsulation by PLA/PLGA coacervation in the light of thermodynamics. 2. parameters determining microsphere formation[J]. J Pharm Sci, 1998, 87(3): 269-275.
  - [19] EDELMAN R, RUSSELL R G, LOSONSKY G, et al. Immunization of rabbits with enterotoxigenic *E.coli* colonization factor antigen (CFA/I) encapsulated in biodegradable microspheres of poly (lactide-co-glycolide)[J]. Vaccine, 1993, 11(2): 155-158.
  - [20] ZHANG J X, ZHU K J, CHEN D. Preparation of bovine serum albumin loaded poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) microspheres by a modified phase separation technique [J]. J Microencapsul, 2005, 22(2): 117-126.
  - [21] LAMPRECHT A, UBRICH N, HOMBREIRO P M, et al. Influences of process parameters on nanoparticle preparation performed by a double emulsion pressure homogenization technique [J]. Int J Pharm, 2000, 196(2): 177-182.
  - [22] MURAKAMI H, KOBAYASHI M, TAKEUCHI H, et al. Preparation of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles by modified spontaneous emulsification solvent diffusion method [J]. Int J Pharm, 1999, 187(2): 143-152.
  - [23] KONAN Y N, CERNY R, FAVET J, et al. Preparation and characterization of sterile sub-200 nm meso-tetra (4-hydroxyphenyl) porphyrin-loaded nanoparticles for photodynamic therapy [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2003, 55(1): 115-124.
  - [24] KWON H Y, LEE J Y, CHOI S W, et al. Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification- diffusion method [J]. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp, 2001, 182(1-3): 123-130.
  - [25] SENDEL-TURK C T, HASCICEK C, DOGAN A L, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of meloxicam-loaded PLGA nanoparticles on HT-29 human colon adenocarcinoma cells [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2012, 38(9): 1107-1116.
  - [26] VEN H V, VANDERVOORT J, WEYENBERG W, et al. Mixture designs in the optimisation of PLGA nanoparticles: influence of organic phase composition on beta- aescin encapsulation [J]. J Microencapsul, 2012, 29(2): 115-125.
  - [27] SONG X R, CAI Z, ZHENG Y, et al. Reversion of multidrug resistance by co-encapsulation of vincristine and verapamil in PLGA nanoparticles[J]. Eur J Pharm Sci, 2009, 37(3-4): 300-305.
  - [28] SONG X, ZHAO Y, WU W, et al. PLGA nanoparticles simultaneously loaded with vincristine sulfate and verapamil hydrochloride: systematic study of particle size and drug entrapment efficiency[J]. Int J Pharm, 2008, 350(1-2): 320-329.
  - [29] VAN DE VEN H, VERMEERSCH M, VANDENBROUCKE R E, et al. Intracellular drug delivery in *Leishmania*-infected macrophages: Evaluation of saponin-loaded PLGA nanoparticles[J]. J Drug Target, 2012, 20(2): 142-154.
  - [30] HAO Z. Preparation of PLGA ceftiofur hydrochlorate lung-targeted microsphere with spray drying process [J]. Journal of Wuhan University of Technology (Materials Science Edition), 2013, 28(6): 1242-1245.
  - [31] WANG F J, WANG C H. Sustained release of etanidazole from spray dried microspheres prepared by non-halogenated solvents[J]. J Controlled Release, 2002, 81: 263-280.
  - [32] GAVINI E, CHETONI P, COSSU M, et al. PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification/spray-drying as the preparation method: *in vitro/in vivo* studies[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2004, 57(2): 207-212.
  - [33] NIE H, LEE L Y, TONG H, et al. PLGA/chitosan composites from a combination of spray drying and supercritical fluid foaming techniques: new carriers for DNA delivery [J]. J Controlled Release, 2008, 129(3): 207-214.
  - [34] SASTRE R L, OLMO R, TEIJON C, et al. 5-fluorouracil plasma levels and biodegradation of subcutaneously injected drug-loaded microspheres prepared by spray-drying poly (D,L-lactide) and poly (D, L-lactide-co-glycolide) polymers[J]. Int J Pharm, 2007, 338(1-2): 180-190.

- [35] MU L, FENG S S. Fabrication, characterization and *in vitro* release of paclitaxel (Taxol) loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared by spray drying technique with lipid/cholesterol emulsifiers[J]. J Controlled Release, 2001, 76(3): 239-254.
- [36] BARRERO A, LOSCERTALES I G. Micro- and nanoparticles via capillary flows[J]. Annu Rev Fluid Mech, 2007, 39: 89-106.
- [37] FREITAS S, MERKLE H P, GANDER B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology [J]. J Controlled Release, 2005, 102(2): 313-332.
- [38] BERKLAND C, POLLAU E, PACK D W, et al. Uniform double-walled polymer microspheres of controllable shell thickness [J]. J Controlled Release, 2004, 96(1): 101-111.
- [39] TEWA-TAGNE P, BRIANCON S, FESSI H. Preparation of redispersible dry nanocapsules by means of spray-drying: development and characterisation[J]. Eur J Pharm Sci, 2007, 30(2): 124-135.
- [40] NAKASHIMA T, SHIMIZU M, KUKIZAKI M. Particle control of emulsion by membrane emulsification and its applications [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2000, 45(1): 47-56.
- [41] NAKASHIMA T, SHIMIZU M, KUKIZAKI M. Articles of porous glass and process for preparing the same: 4657875[P]. 1987.
- [42] 田瑞, 王连艳, 吴颖, 等. 快速膜乳化法制备粒径均一的 PLGA 微球和微囊[J]. 过程工程学报, 2009, 9(4): 754-762.
- TIAN R, WANG L Y, WU J, et al. Preparation of uniform size PLGA microparticles and microcapsules by premix membrane emulsification [J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2009, 9(4): 754-762.
- [43] 曾焯婧, 王连艳, 马光辉, 等. 快速膜乳化法制备载紫杉醇聚乳酸类微球[J]. 过程工程学报, 2010, 10(3): 568-575.
- ZENG Y J, WANG L Y, MA G H, et al. Preparation of microspheres of paclitaxel-loaded PLA, PLGA and PELA by premix membrane emulsification [J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2010, 10(3): 568-575.
- [44] SCHRODER V, SCHUBERT H. Production of emulsions using microporous, ceramic membranes[J]. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp, 1999, 152(1-2): 103-109.
- [45] LEGRAND P, LESIEUR S, BOCHOT A, et al. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation [J]. Int J Pharm, 2007, 344(1-2): 33-43.
- [46] ZHANG J Y, SHEN Z G, ZHONG J, et al. Preparation of amorphous cefuroxime axetil nanoparticles by controlled nanoprecipitation method without surfactants [J]. Int J Pharm, 2006, 323(1-2): 153-160.
- [47] HANS M L, LOWMAN A M. Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting [J]. Curr Opin Solid State Mater Sci, 2002, 6(4): 319-327.
- [48] 温庆果, 陈敬, 刘韶, 等. 沉淀法制备甲基莲心碱聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(15): 1231-1234.
- WEN Q G, CHEN J, LIU S, et al. Preparation of neferine-loaded PLGA nanoparticles using precipitation method [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2011, 31(15): 1231-1234.
- [49] ALSHAMSAN A. Nanoprecipitation is more efficient than emulsion solvent evaporation method to encapsulate cucurbitacin I in PLGA nanoparticles [J]. Saudi Pharm J, 2014, 22(3): 219-222.
- [50] NIU X, ZOU W, LIU C, et al. Modified nanoprecipitation method to fabricate DNA-loaded PLGA nanoparticles [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2009, 35(11): 1375-1383.
- [51] 郑威威, 胡延臣, 王曦培, 等. 洛伐他汀-PLGA 纳米粒的制备及其性质[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(4): 259-264.
- ZHENG W W, HU Y C, WANG X P, et al. Preparation and properties of lovastatin loaded PLGA nanoparticles [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2010, 27(4): 259-264.
- [52] KONGSOMBUT B, CHEN W, TSUTSUMI A, et al. Formation of deagglomerated PLGA particles and PLGA-coated ultra fine powders by rapid expansion of supercritical solution with ethanol cosolvent [J]. Korean J Chem Eng, 2008, 25(4): 838-845.
- [53] KOUSHIK K, KOMPELLA U B. Preparation of large porous-deslorelin-PLGA microparticles with reduced residual solvent and cellular uptake using a supercritical carbon dioxide process [J]. Pharm Res, 2004, 21(3): 524-535.
- [54] FURLAN M, KLUGE J, MAZZOTTI M, et al. Preparation of biocompatible magnetite-PLGA composite nanoparticles using supercritical fluid extraction of emulsions [J]. J Supercrit Fluids, 2010, 54(3SI): 348-356.