

· 研究论文 ·

## 面向栓塞治疗的单分散高弹性可载药水凝胶微球的微流控制备及其性能研究

施超男 郭明雨\*

(苏州大学材料与化学化工学部 新型功能高分子材料国家地方联合工程实验室 江苏省先进功能高分子材料设计及应用重点实验室 苏州市大分子设计与精密合成重点实验室 苏州 215123)

**摘要** 面向栓塞治疗, 利用单乳液毛细管微流控装置制备了粒径均一、尺寸可调节的载药弹性水凝胶微球. 以丙烯酰胺(AM)和3-磺酸丙基甲基丙烯酸钾盐(SPMA)为单体, 与光引发剂、自制大分子胶束多官能度交联剂(MM2), 配制成水溶液作为分散相, 以光引发剂、表面活性剂溶于液体石蜡作为连续相, 在微流控通道内得到单分散内相液滴, 随后通过紫外光照交联聚合, 生成具有优异弹性的水凝胶微球. 三维通道内的压缩实验表明, 微球被压缩约60%而不破碎, 且可快速恢复原貌. 微球能够快速并大量负载阳离子抗癌药物盐酸阿霉素, 20 min即可达到载药平衡, 且包封率均超过97%, 平衡载药量约648 mg/g(干球)、95 mg/g(湿球). 此外, 还对不同粒径载药微球在不同介质中的药物释放行为进行了研究探讨. 研究结果为单分散、高弹性和高载药量水凝胶微球的制备, 特别是在栓塞微球方面的潜在应用研究奠定了一定的基础.

**关键词** 微流控, 单分散微球, 弹性水凝胶微球, 栓塞微球

**引用:** 施超男, 郭明雨. 面向栓塞治疗的单分散高弹性可载药水凝胶微球的微流控制备及其性能研究. 高分子学报, 2024, 55(3), 328-337

**Citation:** Shi, C. N.; Guo, M. Y. Studies on the microfluidic preparation and properties of monodisperse, highly elastic drug-loading hydrogel microspheres toward embolization therapy. *Acta Polymerica Sinica*, 2024, 55(3), 328-337

经导管动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是将经导管动脉栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)和局部化疗相结合对癌症进行治疗的一种方法. 这种方法是把化疗药物和栓塞剂通过一定规格的导管直接注入动脉血管. 一方面由导管输送到肿瘤部位的局部高浓度化疗药物可有效抑制癌细胞生长, 另一方面用栓塞剂阻断供血而使肿瘤组织缺血坏死, 在两方面的协同作用下达到高效治疗目的<sup>[1,2]</sup>. 由于血液循环受限以及药物的局部沉积, 这种方法减小了药物对全身的副作用, 比单独的化学疗法更有效. 通过动脉化疗栓塞将抗癌药物靶向递送至肿瘤正引起越来越多的关注, 近年

来, TACE已经成为不能手术切除的中晚期癌症患者的首选治疗方法<sup>[1,3,4]</sup>. 载药洗脱微球(drug-eluting beads, DEB)作为TACE治疗的一种新的药物递送系统, 克服了传统制剂的不足, 可在肿瘤部位持续而缓慢地释放药物, 使药物在病灶部位长时间维持有效的癌细胞致死浓度.

目前, 用于TACE的栓塞材料多种多样, 可以适应不同部位、不同性质病变的需要<sup>[5-7]</sup>, 按其物理性状可分为机械栓塞剂<sup>[8-11]</sup>、液体栓塞剂<sup>[12-15]</sup>和固体栓塞剂<sup>[16-19]</sup>, 而固体栓塞剂中的校准微球因其精确的粒径得到了发展. 例如, 在肿瘤栓塞中, 经常需要较深的远端微血管栓塞, 这就需要大小一致的小微球(45~150  $\mu\text{m}$ )穿透血管

2023-07-30收稿, 2023-09-13录用, 2023-11-17网络出版.

\* 通信联系人, E-mail: guomingyu@suda.edu.cn

doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2023.23203

床；一旦远端栓塞完成，更多的近端稍粗血管需要用更大的微球(150~250  $\mu\text{m}$ )进行栓塞。这种量身定制的栓塞策略可最大程度地使肿瘤坏死<sup>[20]</sup>。此外，对于脑膜瘤的术前治疗，相对较小的微球(45~150  $\mu\text{m}$ )是最有效的，而子宫肌瘤大多使用较大的微球(最高900  $\mu\text{m}$ )进行栓塞<sup>[21,22]</sup>。此外，可以将药物、蛋白、细胞生长因子和疫苗等封装到微球中，以诱导癌细胞凋亡并限制血管生成<sup>[23,24]</sup>。

目前市面上最常见的可载药栓塞水凝胶微球有DC Bead<sup>[25]</sup> (Biocompatibles公司)和CalliSpheres® Beads<sup>[26]</sup> (苏州恒瑞迦俐生物科技有限公司)等，它们均为磺酸盐修饰的聚乙烯醇水凝胶微球。这2种微球存在粒径不均一的问题，当微球通过导管进入血管时，尺寸较大的微球可能会在其到达病灶部位前堵塞血管，病灶部位末梢动脉栓塞不佳，降低栓塞效果。且多数水凝胶微球弹性较差，容易在导管及血管内中发生破碎，导致微球碎片进入病灶周围血管，存在对体内其他部位产生影响的风险。

在各种癌症治疗方案中，5-氟尿嘧啶(5-FU)、盐酸阿霉素阿霉素(DOX·HCl)、紫杉醇和盐酸普鲁卡因酰胺等多种抗癌药物已用于癌症治疗。在这些药物中，阳离子抗癌药之一的盐酸阿霉素应用最为广泛<sup>[25,27]</sup>。但是盐酸阿霉素一旦进入人体中，不仅对肿瘤细胞具有抑制和杀灭作用，对体内正常细胞也会造成一定的损伤，产生毒副作用。因此，利用一定的技术提高其药效和减少对正常细胞的毒副作用成了人们极其关注的研究方向。目前，较为理想的途径为载药洗脱微球。栓塞微球用于临床手术前需要提前对药物进行负载，那么就要求所使用的微球可以快速且大量地负载药物，例如：尺寸为100~300  $\mu\text{m}$ 的CalliSpheres® Beads负载盐酸阿霉素至40 mg/mL时所需时间约为2 h<sup>[26]</sup>。

近20年来，利用液滴微流控，即通过控制微通道内互不相溶的两相或多相流体的流动，制备单分散的单乳液、双乳液或多乳液液滴及其微球的方法逐渐兴起。微流控装置生成单分散乳状液的能力催生了许多研究领域，包括制备单分散固体颗粒。微通道中液滴形成的机理为：在微米量级尺度的通道内，有2种互不相溶的流体，一种为连续相，一种为分散相。通过特定的通道结构和外力的推动，分散相会在连续相的剪切力和表面

张力作用下于两相通道的接触口处被剪切为特定大小的体积单元并分散于连续相中，即形成液滴。最常见的有3种生成单分散液滴的微流控方法：T型通道法<sup>[28]</sup>、流动聚焦法<sup>[29]</sup>和共流聚焦法<sup>[30]</sup>。

本文中，我们致力于解决传统水凝胶栓塞微球粒径不均一、弹性较差以及载药效率低和载药速率慢等问题。利用简单的单乳液微流控装置，结合课题组发展的可聚合两亲性聚氨酯胶束交联的高弹性水凝胶策略，利用光照自由基聚合技术，通过调节内外相流速等条件，制备了一系列不同尺寸的单分散可载药高弹性水凝胶栓塞微球，得到的微球可快速负载盐酸阿霉素并对其具有较高的包封率和载药量。

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂及仪器

丙烯酰胺(AM, 分析纯)，国药集团化学试剂有限公司产品。3-磺酸丙基甲基丙烯酸钾盐(SPMA, 化学纯)和聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA, 1000 g/mol)皆为苏州格瑞特医药技术有限公司产品。2-酮戊二酸( $\alpha$ -ka)为阿达玛斯试剂有限公司产品。2-羟基-2-甲基丙苯酮(1173)为上海阿拉丁生化科技股份有限公司产品。液体石蜡(化学纯)、异丙醇(分析纯)和氯化钠(分析纯)均为江苏强盛功能化学股份有限公司产品。磷酸盐(PBS)缓冲溶液(分析纯)，上海麦克林生化科技有限公司产品。真空干燥箱(型号DZF-9050, 上海精宏实验设备有限公司)，微量注射泵(型号LSP01-1A, 保定兰格恒流泵有限公司)，LED固化灯(紫外灯，中山卓尔林电器有限公司)，光学显微镜(SK200, 麦克奥迪实业集团有限公司)，紫外可见分光光度计(型号UV-1800, 岛津公司)。

### 1.2 可聚合大分子(MM2)胶束多官能度交联剂的合成

本课题组 Zhao<sup>[31]</sup>等报道的工作中，基于胶束共聚合技术，开发了一种新型的、高弹性的聚丙烯酰胺水凝胶。该策略使用可聚合两亲性聚氨酯大分子(MM2)胶束作为多官能度交联剂。制备的水凝胶在高含水量的溶胀平衡态时仍显示出高度可拉伸行为(断裂伸长率>700%)以及优异的回弹性(500%应变循环拉伸几乎没有滞后和残余应变)。因此，参照以上工作，为提高栓塞微球的弹性，首先合成了交联剂MM2，合成路线如图1

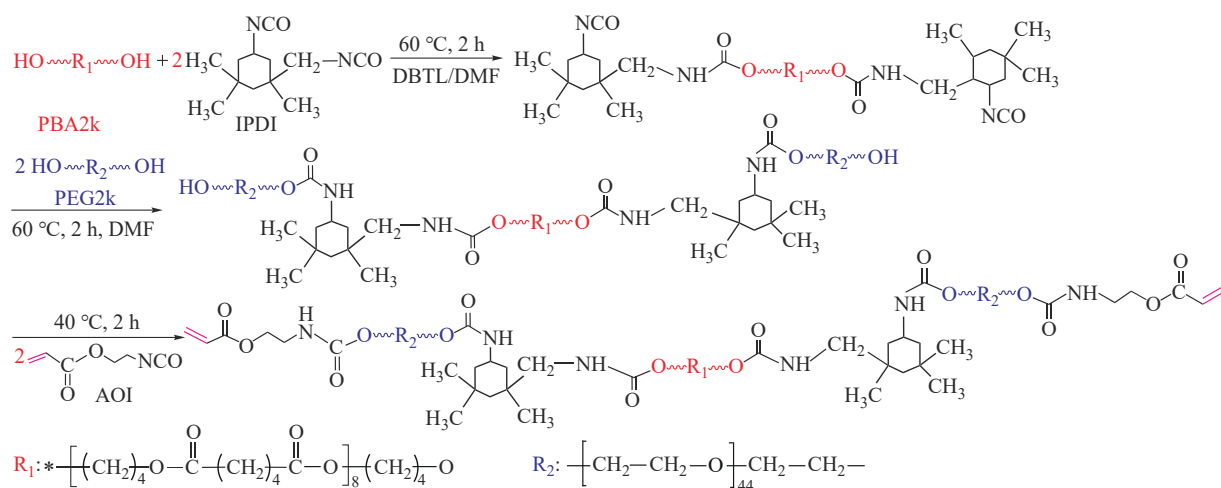


Fig. 1 Synthesis route of the amphiphilic polyurethane macromolecular crosslinker MM2<sup>[31]</sup>.

所示, 具体合成条件及其胶束溶液的配制参见我们之前的文献报道<sup>[31]</sup>.

### 1.3 微流控装置的搭建

如示意图2所示, 微流控装置由玻璃毛细圆管、玻璃方管同轴组成. 其中, 玻璃圆管内径和外径分别为750  $\mu\text{m}$ 和1.0 mm, 方管的内径为1.0 mm. 将2根毛细圆管分别从两端插入到一根内径为1.0 mm的石英方管中, 毛细圆管和方管同轴排列, 连接处用胶水密封.

### 1.4 单分散弹性AM-SPMA水凝胶微球的制备

利用图2中搭建的单乳液毛细管微流控装置, 通过调节内外相流速及内相浓度等条件, 制备得到不同尺寸的微球, 具体制备方法如图3所示. 内外相溶液分别通过微量注射泵注入微流控芯片的内外相微通道内, 由于两相溶液的流速差造成的外相溶液对内相的剪切力以及两相间的界面张力作用, 内相溶液在收集管内被剪切形成单分散液滴, 液滴在光照下通过自由基共聚合, 交联形成水凝胶微球, 最终可以制得一系列不同尺

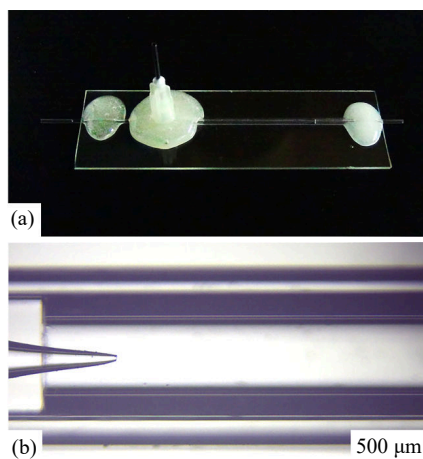


Fig. 2 (a) Digital photograph of the microfluidic device; (b) Microscope photograph of the microfluidic device at local magnification.

寸的单分散水凝胶微球. 对所有的实验, 内相中AM和SPMA的质量比均为2:1. 需要说明的是, 油相中加入光引发剂(1173)后可以使内相液滴的表面(油水界面处)充分聚合, 微球的稳定性更好.

实验中将收集管的一端浸入盛有异丙醇的样

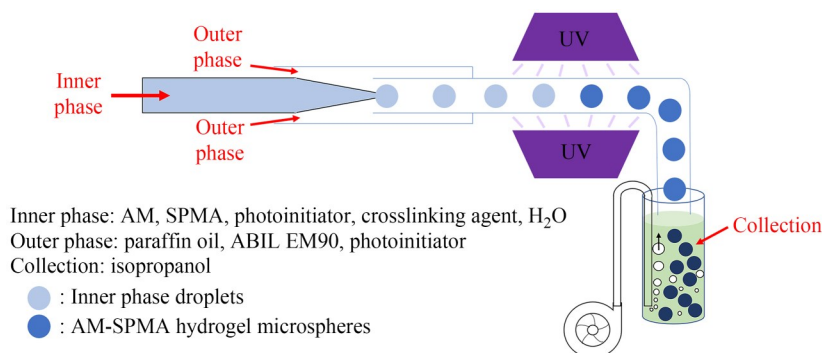


Fig. 3 Schematic diagram of microfluidic preparation of AM-SPMA monodisperse elastic hydrogel microspheres.

品瓶中, 在收集微球的过程中用气泵对收集液进行鼓泡, 防止微球在溶液中聚集粘连. 微球收集完毕后, 用异丙醇清洗数次, 直至将外相清洗干净. 随后浸泡在 0.9 wt% NaCl 水溶液中, 每 2 h 更换溶液 1 次, 直至异丙醇完全被除去且微球在溶液中溶胀平衡. 这些清洗过程同时可以去除未聚合的单体、交联剂和光引发剂等残留物.

### 1.5 微球的弹性以及对盐酸阿霉素的负载与释放行为表征

在栓塞治疗过程中, 需要通过导管将载药微球输送到肿瘤部位(图4), 这就要求微球具有一定的弹性, 即微球在通过导管后不会发生破碎并且能够快速恢复其原始形貌. 此外, 弹性微球可以在血管内更好的紧密堆积, 一方面可以紧贴血管壁, 提高负载药物的疗效, 另一方面可以更有效堵死血管, 达到最佳的治疗效果, 同时还有效降低其在血管内破碎带来的诸多潜在风险.

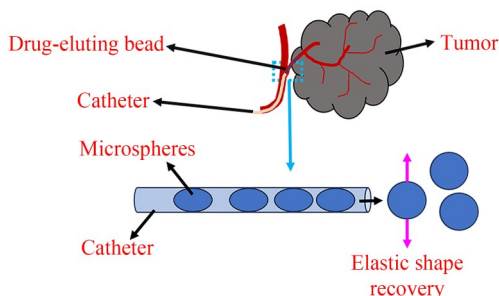


Fig. 4 Schematic diagram showing drug loaded microspheres transported to the tumor site through a catheter.

为检测所制备微球的弹性, 将制得的微球在 0.9 wt% NaCl 水溶液中溶胀平衡后, 装入注射器中. 将玻璃毛细管中间部位用拉针仪拉至所需内径, 使微球通过玻璃毛细管细颈部位进行三维压缩, 观察微球通过玻璃毛细管细颈后能否快速恢复形貌, 微球表面是否有破碎. 压缩过程中为方便观察, 将微球用蓝色墨水进行染色.

微球结构中的阴离子型磷酸根基团可与带有正电荷的药物通过库仑力相互作用而结合. 这里采用盐酸阿霉素作为实验药物进行负载. 将上述得到的 0.9 wt% NaCl 水溶液溶胀平衡的微球, 用异丙醇浸泡除去微球中的水分, 然后置于 40 °C 真空烘箱中干燥 1 h 除去异丙醇得到干球. 称取一定质量( $w_0$ , g)的干球, 加入一定质量的浓度为 5 mg/g 的盐酸阿霉素溶液中, 不时振荡摇晃, 以加快微球吸附药物的速率. 我们通过紫外分光光度

法, 依据预先测试绘制的盐酸阿霉素的浓度标准曲线, 测得不同时间间隔的溶液中盐酸阿霉素的量  $w_t$  (mg), 并根据公式(1)计算微球对盐酸阿霉素的包封率(encapsulation efficiency, EE), 公式(2)计算湿球的载药量(drug loading, DL), 公式(3)计算干球的载药量:

$$EE(\text{wt}\%) = \left( \frac{w_1 - w_t}{w_1} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$DL(\text{mg/g}) = \left( \frac{w_1 - w_t}{w_2} \right) \quad (2)$$

$$DL(\text{mg/g}) = \left( \frac{w_1 - w_t}{w_0} \right) \quad (3)$$

其中,  $w_1$  为初始溶液中盐酸阿霉素的总质量(mg),  $w_2$  为溶胀载药后的湿微球的总质量(g).

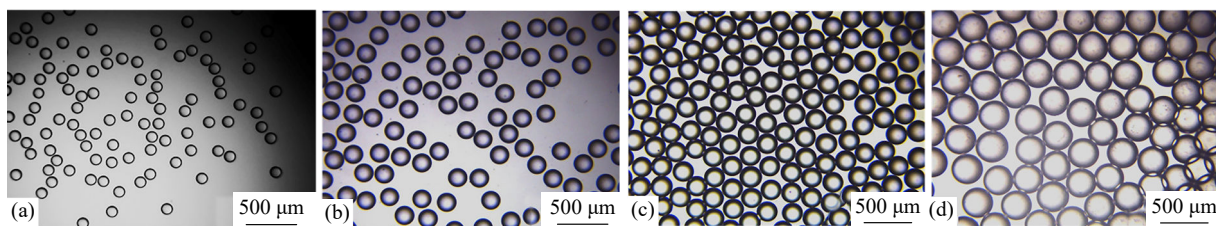
为研究载药微球的体外释放行为, 称取一定量载药后的微球浸泡于 pH=7.4 的 PBS 缓冲溶液中, 在 37 °C 恒温条件下进行药物释放实验. 在不同时间取定量溶液, 并补加等量的 PBS. 用紫外光谱法检测取出的溶液中的盐酸阿霉素的浓度, 根据标准曲线计算得到微球所释放的盐酸阿霉素的量.

## 2 结果与讨论

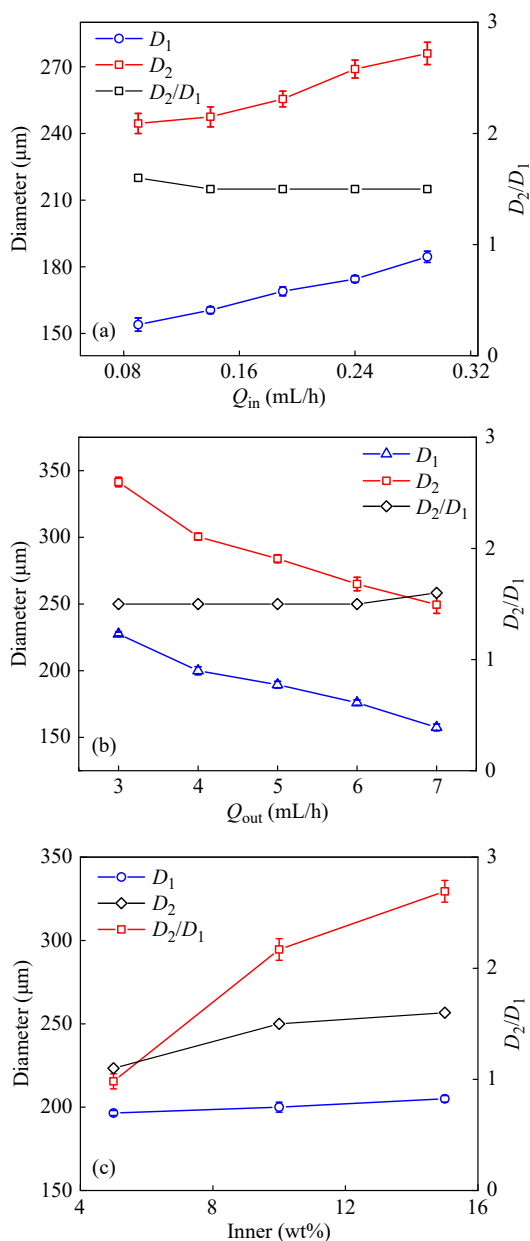
### 2.1 不同参数对微球尺寸的影响

利用微流控技术制备微球的一大优势在于, 微球的尺寸可以通过简单地调节内外相流体的体积流速或溶液浓度等条件对其进行精细地控制. 图5是部分不同内相浓度和内外相流速下制备的 AM-SPMA 水凝胶微球的光学显微镜照片. 从图中可以看出, 通过简单调节内相浓度和内外相流速, 可以得到所需粒径水凝胶微球, 且所制备的微球的粒径具有优异的单分散性. 可以满足不同肿瘤、同一肿瘤的不同部位所需不同粒径的单分散栓塞微球的实际需求.

图6为微球粒径随内外相流速以及内相溶液浓度变化的曲线图. 图中  $D_1$  为通过微流控制得的微球的原始粒径, 所制备的微球通过异丙醇清洗并用 0.9 wt% NaCl 水溶液浸泡至溶胀平衡后的粒径为  $D_2$ . 从图中可以看出, 当固定外相的流速( $Q_{out}$ )时, 微球的尺寸随着内相流速( $Q_{in}$ )的升高而增大(图6(a)); 而当固定内相的流速时, 微球的尺寸则随着外相流速的降低而减小(图6(b)). 与此同时, 当固定内外相的流速, 内相溶液中单体



**Fig. 5** Optical micrographs of the monodisperse AM-SPMA hydrogel microspheres with different concentrations of AM and SPMA ( $c_{in}$ ) in the inner phase at different flow rates. (a)  $c_{in}=10$  wt%,  $Q_{in}=0.09$  mL/h,  $Q_{out}=6$  mL/h; (b)  $c_{in}=10$  wt%,  $Q_{in}=0.2$  mL/h,  $Q_{out}=5$  mL/h; (c)  $c_{in}=15$  wt%,  $Q_{in}=0.2$  mL/h,  $Q_{out}=4$  mL/h; (d)  $c_{in}=10$  wt%,  $Q_{in}=0.3$  mL/h,  $Q_{out}=0.5$  mL/h. For all the experiments, the weight ratio of AM to SPMA is 2.



**Fig. 6** (a) Plot of microsphere diameter as a function of internal phase flow rate; (b) Plot of microsphere diameter as a function of external phase flow rate; (c) Plot of microsphere diameter as a function of the total concentration of AM and SPMA in the internal phase.

的总浓度增大时, 微球的尺寸略有增大, 但不明显(图6(c)). 这是由于内相溶液浓度升高, 黏度增大所致, 但由于溶质均为小分子化合物, 浓度升高时黏度变化不大. 此外, 改变内外相流速以及内相溶液浓度所制得微球的  $D_2/D_1$  均为 1.5 左右, 这是因为内相溶液各组分比例相同, 微球的交联度相同, 所以其溶胀率相同. 这些实验结果进一步表明, 通过简单地调节内外相的流速即可制得所需尺寸的单分散微球.

## 2.2 微球溶胀平衡后的弹性测试

微球的压缩性能通常采用二维平面上的微纳米压痕仪来表征. 这里为更好模拟栓塞微球经导管注射和在肿瘤血管内的三维压缩行为, 我们尝试将内径为 1 mm 的玻璃毛细圆管经拉针仪煅拉, 将其中间部位内径拉至所需的尺寸后, 用胶水固定在载玻片上, 搭建微球压缩测试装置. 将溶胀平衡并经墨水染色后的微球装入注射器中, 加压使微球通过玻璃毛细管直径最小处, 观察其压缩前后的形貌. 图7(a)为在 0.9 wt% NaCl 溶液中溶胀平衡后直径为 400  $\mu\text{m}$  微球压缩前的截图. 微球在毛细玻璃管细颈处(内径 150  $\mu\text{m}$ , 图7(b))可以承受较大的形变, 在细颈处被三维压缩超过 60% 后仍可迅速恢复形貌(图7(c)), 且压缩后的微球表面光滑, 球形完整, 未观察到微球表面有破碎现象(图7(d)), 表明所制微球具有极好的可压缩性和弹性, 可以满足微球经导管注射时的挤压形变和在血管内的变形紧密堆积.

## 2.3 AM-SPMA 水凝胶微球对盐酸阿霉素的负载与释放行为

将在 0.9 wt% NaCl 水溶液中溶胀平衡后直径为  $(295 \pm 5)$   $\mu\text{m}$  (图8(a))的微球经过异丙醇洗涤、干燥后得到 AM-SPMA 干球(图8(b)). 取适量干球, 加入一定量的浓度为 5 mg/g 的盐酸阿霉素溶

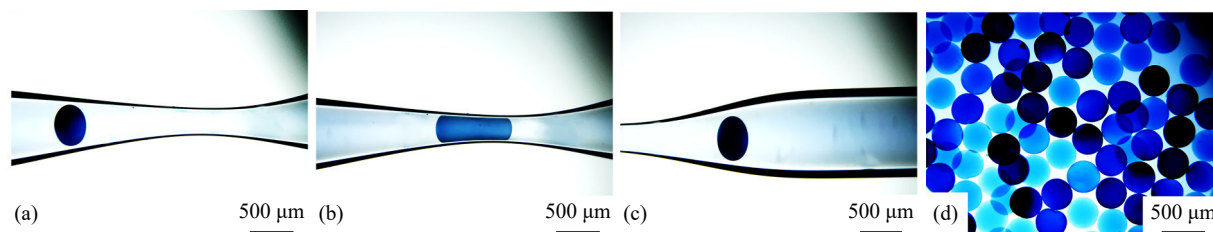


Fig. 7 (a) Microscope photographs showing the microsphere before compression being compressed (b) and after compression (c). (d) Optical microscope photograph of the microspheres after compression experiments.

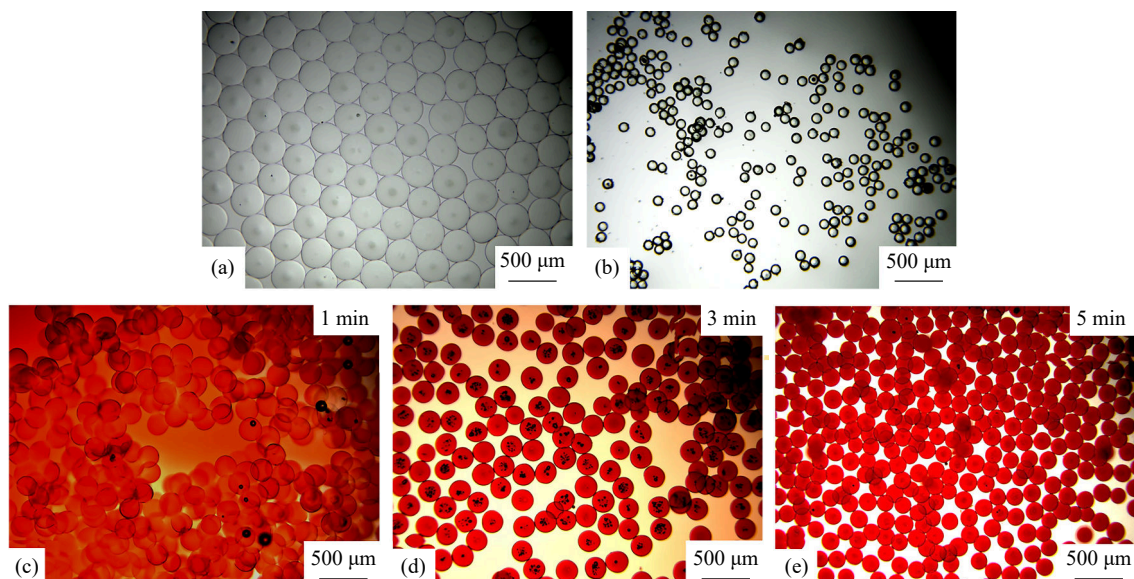


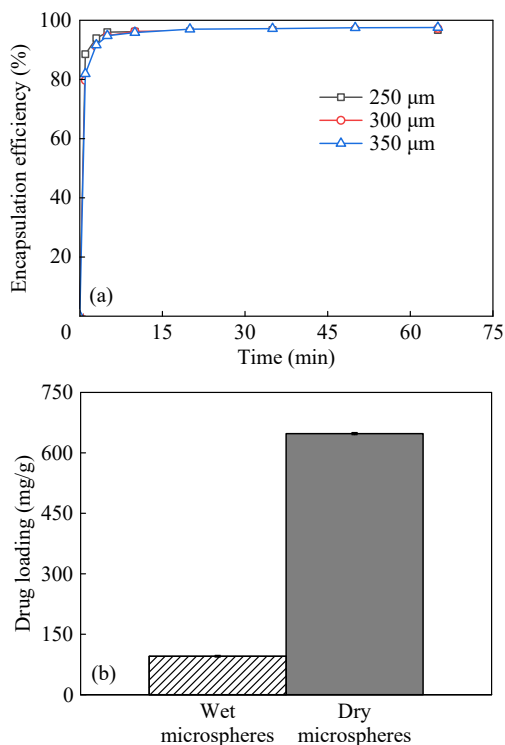
Fig. 8 (a) Optical micrographs of the 0.9 wt% NaCl aqueous solution equilibrium swelling microspheres with diameter of  $(295\pm 5)\ \mu\text{m}$ ; (b) Optical micrographs of microspheres after isopropanol washing and drying. Optical micrographs showing the AM-SPMA dry spheres after being immersed in DOX·HCl aqueous solution at 1 min (c), 3 min (d) and 5 min (e).

液，使微球成为最终载药量约为 90 mg/g 的湿球，图 8(c)、8(d)和 8(e)分别为加入药物约 1、3 和 5 min 后微球载药的光学显微镜照片。从图中可以看出，滴加盐酸阿霉素约 5 min 后微球的颜色变为深红，溶液的颜色几乎变为无色，以此可以看出所制备的微球能在极短的时间内负载大量的药物。载药平衡后( $\sim 5\ \text{min}$ )的微球直径为 $(175\pm 5)\ \mu\text{m}$ ，远小于在 0.9 wt% NaCl 水溶液中溶胀平衡后的直径。这是由于盐酸阿霉素与微球的磺酸基基团间存在强静电相互作用，降低了微球凝胶网络的亲水性和溶胀性能，与 Taylor 等报道的现象一致<sup>[32]</sup>。

微球的载药速率、药物包封率和载药量是载药微球的重要参数。不同粒径的微球的载药速率、药物包封率以及载药量的定量测试过程如下：分别称取 30 mg  $D_1$  为 250、300 和 350  $\mu\text{m}$  的 AM-SPMA 干球，同时加入 4 g 浓度为 5 mg/g 的盐酸阿霉素溶液，不时振荡加快微球对药物的吸附。

如图 9(a)所示，不同粒径的微球均展现出极快的载药速率，3 min 内对 DOX·HCl 的包封率均超过 90%，远远快于文献中报道的载药速率<sup>[26]</sup>，20 min 时 3 种不同粒径的微球对盐酸阿霉素的包封率均已超过 97% (图 9(a))，展现出优异的药物包封率和载药速率，且不同粒径的微球间并无明显差异。与此同时，平衡时不同粒径的干、湿球的载药量几乎相同，分别为 648 和 95 mg/g (图 9(b))，远高于文献中报道的 DC Bead (45 mg/g) 与 Callispheres (40 mg/g) 栓塞微球的载药量<sup>[25,26]</sup>。这可能是由于：(1)与 DC beads 和 CalliSpheres 相比，我们的微球中的阴离子单体 SPMA 钾盐的含量较高；(2)与 DC beads 和 CalliSpheres 中 AMPS 钠盐相比，阴离子基团磺酸基团与主链间少了 2 个甲基，且与 AM 呈无规共聚，更小的空间位阻作用可以促使其更快速有效与阳离子药物结合，故其具有更快的载药速率和更高的载药量。

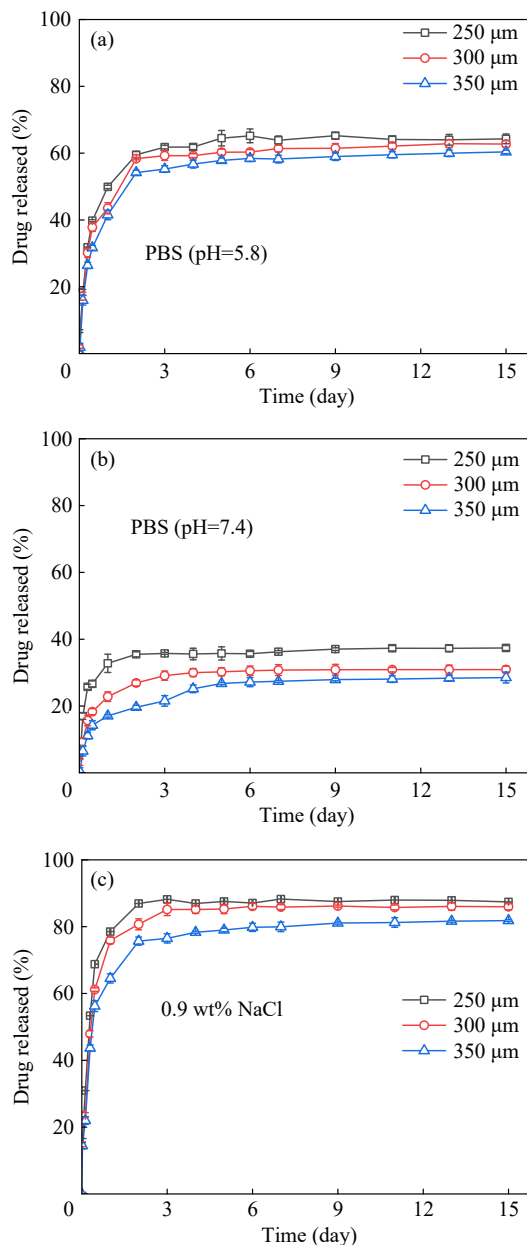
为进一步测试载药后微球的药物释放行为，



**Fig. 9** (a) DOX-HCl loading kinetic of AM-SPMA dry sphere with different diameters; (b) Maximum drug loading capacity of dry and wet AM-SPMA spheres.

分别取 30 mg 上述载药后的微球浸泡于 60 g pH 分别为 7.4 和 5.8 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)以及 0.9 wt% NaCl 水溶液中, 在 37 °C 恒温条件下进行药物释放行为研究. 在不同时间取 0.2 g 溶液, 并将其稀释至 2.5 g, 用紫外可见分光光度计检测, 从而得到微球所释放的盐酸阿霉素的浓度, 进一步计算所释放的盐酸阿霉素的量. 如图 10(a)~10(c) 所示, 3 种不同粒径的微球在不同介质中展现出类似的释放行为, 前 3 天释放速率较快, 之后逐渐趋于平缓; 且在相同的溶液中, 微球直径越小, 其药物释放速率越快, 且释放量越高. 这些结果及释放速率与文献报道的结果相似<sup>[33]</sup>.

与此同时, 从图 10 也可以看出, 同一直径的载药微球在 0.9 wt% NaCl 溶液中的释放速率以及释放量均远高于 pH 分别为 7.4 和 5.8 的 PBS. 这是由于离子强度越大, 离子交换作用越强, 因而药物释放越快, 释放量也越多. 此外, 在 pH=5.8 酸性条件下, 盐酸阿霉素的释放量远高于 pH=7.4 时, 展现出对环境 pH 值的显著依赖性. 这是由于酸性条件下盐酸阿霉素具有更好的亲水性和水溶性, 与磺酸基阴离子间的静电相互作用较弱, 故而更容易释放, 且释放量也更高. 另外,



**Fig. 10** Drug release profiles of the drug-loading microspheres with  $D_1$  of 250, 300 and 350 μm, in PBS at pH=7.4 (a), pH=5.8 (b), and 0.9 wt% NaCl aqueous solution (c).

文献报道, 盐酸阿霉素的这种药物释放行为的 pH 响应性对于维持其在酸性肿瘤微环境中有效的体内药物浓度是有利的<sup>[34]</sup>.

### 3 结论

利用单乳液毛细管微流控装置, 通过简单调节内外相流速以及浓度等条件, 可在粒径 100~500 μm 范围内精准调控微球的尺寸. 且所制备的微球具有优异的弹性, 在自制微通道内, 直径三维压缩超过 60% 后仍能够迅速恢复形貌. 将制得

的微球用于负载常见的亲水性抗癌药物盐酸阿霉素，测试表明我们所制得的微球在5 min内载药量可达90 mg/g盐酸阿霉素，并且最大载药量可达到648 mg/g(干球)、95 mg/g(湿球)，包封率超过97%。药物释放实验表明，酸性条件下载药

微球具有更快的释放速率和更高的释放率，对于酸性环境的肿瘤的治疗具有一定的响应性。这些研究结果为单分散、高弹性水凝胶载药微球的制备，特别是在栓塞微球方面的潜在应用研究提供了一定的研究基础。

## REFERENCES

- 1 Wáng, Y. X.; de Baere, T.; Idée, J. M.; Ballet, S. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences. *Chin. J. Cancer Res.*, **2015**, 27(2), 96–121.
- 2 金雪峰, 许颖, 沈晓兰, 陈祥峰, 宗在伟. 载药动脉栓塞微球DC Bead™研究进展. *药学与临床研究*, **2012**, 20(4), 319–325.
- 3 Burt, H. M.; Jackson, J. K.; Bains, S. K.; Liggins, R. T.; Oktaba, A. M. C.; Arsenault, A. L.; Hunter, W. L. Controlled delivery of taxol from microspheres composed of a blend of ethylene-vinyl acetate copolymer and poly(*d,l*-lactic acid). *Cancer Lett.*, **1995**, 88(1), 73–79.
- 4 Kato, T.; Nemoto, R.; Mori, H.; Takahashi, M.; Tamakawa, Y. Transcatheter arterial chemoembolization of renal cell carcinoma with microencapsulated mitomycin C. *J. Urol.*, **1981**, 125(1), 19–24.
- 5 石拯拯, 敖国昆. 带药微球缓释栓塞制剂的研究现状. *中华临床医师杂志*, **2012**, 6(13), 3675–3678.
- 6 Zeng, J.; Li, L.; Zhang, H. S.; Li, J. Y.; Liu, L. L.; Zhou, G. F.; Du, Q.; Zheng, C. S.; Yang, X. L. Radiopaque and uniform alginate microspheres loaded with tantalum nanoparticles for real-time imaging during transcatheter arterial embolization. *Theranostics*, **2018**, 8(17), 4591–4600.
- 7 Du, Q.; Li, L.; Liu, Y. M.; Zeng, J.; Li, J. Y.; Zheng, C. S.; Zhou, G. F.; Yang, X. L. Fabrication of inherently radiopaque BaSO<sub>4</sub>@BaAlg microspheres by a one-step electrospraying method for embolization. *J. Mater. Chem. B*, **2018**, 6(21), 3522–3530.
- 8 Vaidya, S.; Tozer, K. R.; Chen, J. An overview of embolic agents. *Semin. Interv. Radiol.*, **2008**, 25(3), 204–215.
- 9 Zhu, Y. Q.; Zhang, H. B.; Zhang, Y. R.; Wu, H. Y.; Wei, L. M.; Zhou, G.; Zhang, Y. Z.; Deng, L. F.; Cheng, Y. S.; Li, M. H.; Santos, H. A.; Cui, W. G. Endovascular metal devices for the treatment of cerebrovascular diseases. *Adv. Mater.*, **2019**, 31(8), e1805452.
- 10 Landsman, T. L.; Bush, R. L.; Glowczwski, A.; Horn, J.; Jessen, S. L.; Ungchusri, E.; Diguette, K.; Smith, H. R.; Hasan, S. M.; Nash, D.; Clubb, F. J.; Maitland, D. J. Design and verification of a shape memory polymer peripheral occlusion device. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, **2016**, 63, 195–206.
- 11 Peterson, G. I.; Dobrynin, A. V.; Becker, M. L. Biodegradable shape memory polymers in medicine. *Adv. Healthc. Mater.*, **2017**, 6, 1700694.
- 12 Ebara, M.; Okabe, S.; Kita, K.; Sugiura, N.; Fukuda, H.; Yoshikawa, M.; Kondo, F.; Saisho, H. Percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma: therapeutic efficacy based on 20-year observation. *J. Hepatol.*, **2005**, 43(3), 458–464.
- 13 Mason, K. P.; Michna, E.; Zurakowski, D.; Koka, B. V.; Burrows, P. E. Serum ethanol levels in children and adults after ethanol embolization or sclerotherapy for vascular anomalies. *Radiology*, **2000**, 217(1), 127–132.
- 14 Kim, D.; Lee, J. H.; Moon, H.; Seo, M.; Han, H.; Yoo, H.; Seo, H.; Lee, J. G.; Hong, S.; Kim, P.; Lee, H. J.; Chung, J. W.; Kim, H. Development and evaluation of an ultrasound-triggered microbubble combined transarterial chemoembolization (TACE) formulation on rabbit VX2 liver cancer model. *Theranostics*, **2021**, 11(1), 79–92.
- 15 Tamatani, S.; Koike, T.; Ito, Y.; Tanaka, R. Embolization of arteriovenous malformation with diluted mixture of NBCA. *Interv. Neuroradiol.*, **2000**, 6, 187–190.
- 16 Sheth, R. A.; Sabir, S.; Krishnamurthy, S.; Avery, R. K.; Zhang, Y. S.; Khademhosseini, A.; Oklu, R. Endovascular embolization by transcatheter delivery of particles: past, present, and future. *J. Funct. Biomater.*, **2017**, 8(2), 12.
- 17 Kunstlinger, F.; Brunelle, F.; Chaumont, P.; Doyon, D. Vascular occlusive agents. *Am. J. Roentgenol.*, **1981**, 136(1), 151–156.
- 18 Tadavarthy, S. M.; Moller, J. H.; Amplatz, K. Polyvinyl alcohol (Ivalon): a new embolic material. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.*, **1975**, 125(3), 609–616.
- 19 Speakman, T. J. Internal occlusion of a carotid-cavernous fistula. *J. Neurosurg.*, **1964**, 21(4), 303–305.



- 20 Lazzaro, M. A.; Badruddin, A.; Zaidat, O. O.; Darkhabani, Z.; Pandya, D. J.; Lynch, J. R. Endovascular embolization of head and neck tumors. *Front. Neurol.*, **2011**, 2, 64.
- 21 Katsumori, T.; Nakajima, K.; Mihara, T.; Tokuhira, M. Uterine artery embolization using gelatin sponge particles alone for symptomatic uterine fibroids. *Am. J. Roentgenol.*, **2002**, 178(1), 135–139.
- 22 Katsumori, T.; Kasahara, T.; Akazawa, K. Long-term outcomes of uterine artery embolization using gelatin sponge particles alone for symptomatic fibroids. *Am. J. Roentgenol.*, **2006**, 186(3), 848–854.
- 23 Bannerman, D.; Wan, W. Multifunctional microbeads for drug delivery in TACE. *Expert Opin. Drug Deliv.*, **2016**, 13(9), 1289–1300.
- 24 Alvarez, M. M.; Aizenberg, J.; Analoui, M.; Andrews, A. M.; Bisker, G.; Boyden, E. S.; Kamm, R. D.; Karp, J. M.; Mooney, D. J.; Oklu, R.; Peer, D.; Stolzoff, M.; Strano, M. S.; Trujillo-de Santiago, G.; Webster, T. J.; Weiss, P. S.; Khademhosseini, A. Emerging trends in micro- and nanoscale technologies in medicine: from basic discoveries to translation. *ACS Nano*, **2017**, 11(6), 5195–5214.
- 25 Lewis, A. L.; Gonzalez, M. V.; Lloyd, A. W.; Hall, B.; Tang, Y. Q.; Willis, S. L.; Leppard, S. W.; Wolfenden, L. C.; Palmer, R. R.; Stratford, P. W. DC bead: *in vitro* characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, **2006**, 17(2), 335–342.
- 26 Zhang, S. S.; Huang, C.; Li, Z. Z.; Yang, Y. J.; Bao, T. T.; Chen, H. B.; Zou, Y. H.; Song, L. Comparison of pharmacokinetics and drug release in tissues after transarterial chemoembolization with doxorubicin using diverse lipiodol emulsions and CalliSpheres beads in rabbit livers. *Drug Deliv.*, **2017**, 24(1), 1011–1017.
- 27 Biondi, M.; Fusco, S.; Lewis, A. L.; Netti, P. A. New insights into the mechanisms of the interactions between doxorubicin and the ion-exchange hydrogel DC bead™ for use in transarterial chemoembolization (TACE). *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **2012**, 23(1-4), 333–354.
- 28 缪世锋, 余金鹏, 关怡新, 姚善涇. T型微通道装置制备单分散PLGA微球. *高分子学报*, **2012**, (2), 154–159.
- 29 Anna, S. L.; Bontoux, N.; Stone, H. A. Formation of dispersions using “flow focusing” in microchannels. *Appl. Phys. Lett.*, **2003**, 82(3), 364–366.
- 30 Cramer, C.; Fischer, P.; Windhab, E. J. Drop formation in a co-flowing ambient fluid. *Chem. Eng. Sci.*, **2004**, 59(15), 3045–3058.
- 31 Zhao, T. T.; Tan, M.; Cui, Y. L.; Deng, C.; Huang, H.; Guo, M. Y. Reactive macromolecular micelle crosslinked highly elastic hydrogel with water-triggered shape-memory behaviour. *Polym. Chem.*, **2014**, 5(17), 4965–4973.
- 32 Taylor, R. R.; Tang, Y. Q.; Gonzalez, M. V.; Stratford, P. W.; Lewis, A. L. Irinotecan drug eluting beads for use in chemoembolization: *in vitro* and *in vivo* evaluation of drug release properties. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2007**, 30(1), 7–14.
- 33 Du, L. R.; Huang, Y. G.; Zhang, Q.; Zhou, Y.; Huang, J. W.; Yan, L. B.; Yu, Z. J.; Qin, A. P.; Yang, H. N.; Chen, M. R.; Liang, L.; Bian, B. Y.; Li, X. F.; Fu, J. J. Synthesis and assessment of drug-eluting microspheres for transcatheter arterial chemoembolization. *Acta Biomater.*, **2019**, 88, 370–382.
- 34 Huang, H.; Du, M. Z.; Chen, J. D.; Zhong, S. N.; Wang, J. H. Preparation and characterization of abalone shells derived biological mesoporous hydroxyapatite microspheres for drug delivery. *Mater. Sci. Eng. C*, **2020**, 113, 110969.

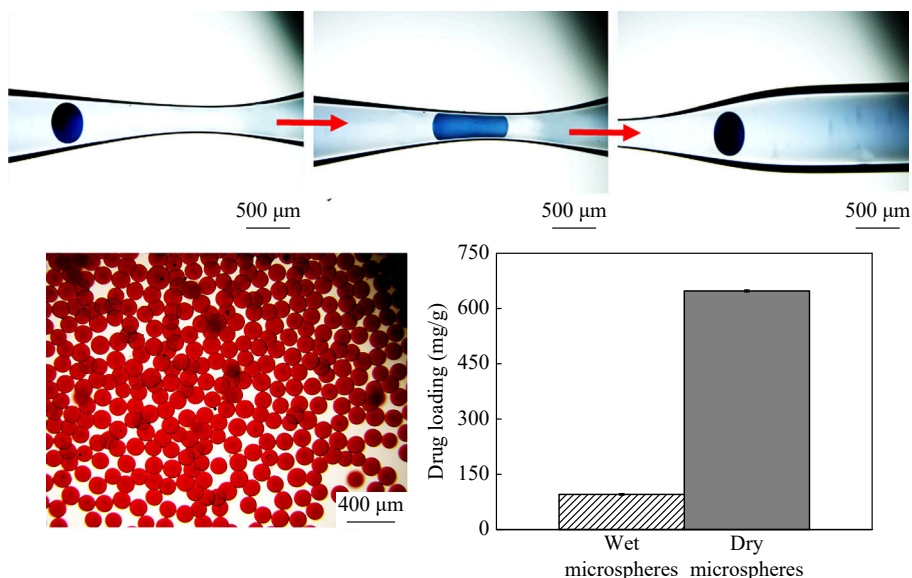
Research Article

## Studies on the Microfluidic Preparation and Properties of Monodisperse, Highly Elastic Drug-loading Hydrogel Microspheres Toward Embolization Therapy

Chao-nan Shi, Ming-yu Guo\*

(State and Local Joint Engineering Laboratory for Novel Functional Polymeric Materials, Jiangsu Key Laboratory of Advanced Functional Polymers Design and Application, Suzhou Key Laboratory of Macromolecular Design and Precision Synthesis, College of Chemistry, Chemical Engineering and Materials Science, Soochow University, Suzhou 215123)

**Abstract** The aim of this paper is to prepare drug-loaded, highly elastic hydrogel microspheres with monodisperse size distribution and adjustable diameters using a single-emulsion capillary microfluidic device for potential embolization therapy. Aqueous solution of acrylamide (AM) and potassium 3-sulfopropyl methacrylate (SPMA) (monomers), water soluble photo initiator and homemade macromolecular (MM2) micelle (multifunctional cross-linking agent) was used as the dispersed (inner) phase. Oil soluble photo initiator and surfactants were dissolved in liquid paraffin wax, used as the continuous (outer) phase. Monodisperse inner-phase droplets were obtained in the microfluidic channel, which was then crosslinked and polymerized by ultraviolet irradiation to produce hydrogel microspheres with excellent elasticity. The obtained microsphere could be 3D compressed within a round capillary tube more than 60% without breaking and could immediately recover to its original state. The microsphere could quickly load the cationic anticancer drug doxorubicin hydrochloride with high capacity, and the encapsulation efficiency exceeded 97% within 20 min. The equilibrium drug loading capacity was about 648 mg/g (dry spheres) and 95 mg/g (wet spheres). In addition, the drug release behaviors of drug loaded microspheres with different particle sizes in different media were also studied and discussed. These results provide some new experimental and theoretical supports for the preparation of monodisperse, highly elastic and high drug loading hydrogel microspheres, especially for their potential application of embolic microspheres.



**Keywords** Microfluidics, Monodisperse microspheres, Elastic hydrogel microsphere, Embolization microspheres

\* Corresponding author: Ming-yu Guo, E-mail: guomingyu@suda.edu.cn