

# 蚕丝蛋白微球制备方法的研究进展

卢晨,张捷,王亚飞,龙丹,闫书芹,张强\*

(武汉纺织大学 先进纺纱织造及清洁生产国家地方联合工程实验室,湖北 武汉 430073)

**摘要:**蚕丝蛋白微球是目前国内外药物缓释研究的热点。综述了基于不同原理和方法制备丝蛋白缓释微球的研究现状及其难以产业化的原因,分析了现有丝蛋白微球加工成型中存在的问题,提出了可能的解决方案,展望了丝蛋白微球制备和其应用前景。

**关键词:**蚕丝蛋白;缓释微球;制备方法;研究进展

**中图分类号:**O629

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-0356(2016)09-0006-01

蚕丝作为一种天然蛋白质纤维具有优异的机械性能,良好的生物相容性和生物降解性。同时作为天然高分子材料的蚕丝丝素蛋白来源于生物体,其氨基酸序列中携带的部分生物信息可被细胞识别;丝素蛋白是由蚕的绢丝腺内壁上的内皮细胞分泌的高纯度蛋白质,不含细胞器,与人类之间无病原微生物交叉感染的风险,其生物安全性得到可靠保障;可被生物降解,最终产物为氨基酸或寡肽易被机体吸收;可被溶解、纯化后加工成多种形态的材料。因此丝素蛋白已被用于化妆品和食品添加剂约三十年,在手术缝合线领域也有近百年的使用历史<sup>[1]</sup>。现已开发的丝素蛋白创面保护膜具有良好的生物相容性<sup>[2]</sup>,促创面重建的活性并改进了其可缝合性能<sup>[3]</sup>。在药物缓释和再生医学微纳载体领域,丝素蛋白微球与部分细胞、机体组织具有特殊的亲和性,能够将所载药物在靶区集中,从而实现机体病灶的靶向治疗<sup>[4]</sup>,表现出了极大的应用潜力和市场前景。因此丝素蛋白缓释微球的制备、结构、性能和应用,已成为了目前医药制剂和再生医学领域的研究热点和重点。

## 1 丝素蛋白微球的制备方法

目前国内外微球制备的方法有很多种,不同的制备方法可获得从几十纳米到几百微米不等的微球,且微球的性能和应用也有一定差异,如载药率、药物释放速度等。因此微球制备方法的选择对微球最终的性能和释药效率至关重要。现有的丝素微球制备方法包括

乳化法、膜乳化法、相分离法、喷雾干燥法、自组合法、生物矿化模板法、溶剂蒸发法、电场调控法等。

### 1.1 乳化法

乳化法是制备微球最常用的方法,它是将丝素溶液加入到含有一定量乳化剂的油相中,在一定的条件下形成 O/W 或 W/O 型微颗粒,然后在蛋白质变性诱导剂的作用下形成结构致密的丝素微球,经干燥后获得微球。

用乳化法制备微球时微球的成型受诸多因素的影响,如搅拌速率、乳化剂浓度、有机溶剂种类和使用比例、乳化时间。杨道伟等<sup>[5]</sup>利采用乳固化法制得形态圆整,粒径分布在 4—40  $\mu\text{m}$  二甲双胍丝素微球。叶漫文等<sup>[6]</sup>采用无机乳化交联法,以京尼平为交联剂制备了形态规则、表面光滑、粒径为(7.84±0.97)  $\mu\text{m}$  的丝素蛋白-壳聚糖微球,且研究表明该微球载药率和缓释效果理想。Juthamas R 等<sup>[7]</sup>采用 W/O 乳化法制备了形状规整、湿态下粒径为 297—367  $\mu\text{m}$  的丝素/明胶混合微球,实现运载胡椒碱和姜黄素的双释放系统构建,提高了微球的载药率和生物降解周期,增强了药物缓释效果。Go N K 等<sup>[8]</sup>利用乳交联法制备了粒径为 0.8—2.1  $\mu\text{m}$  载有葡萄聚糖的丝素蛋白微球,成功应用于 3T3 细胞的摄入及其生长和繁殖的研究。Sinthops 等<sup>[9]</sup>采用乳交联法制备了粒径为 720—900  $\mu\text{m}$ 、表面有明显沟槽的明胶/丝素微球,研究表明微球的粒径受明胶/丝素比例的影响。Mangkorn S A 等<sup>[10]</sup>利用乳分散法制备了球形、表面光滑、平均粒径为 158  $\mu\text{m}$ 、载药率高达 83% 的丝素微球。Cheng C 等<sup>[11]</sup>利用乙醇将丝素大分子自组装成纳米颗粒,然后将纳米颗粒悬浮在聚己内酯(PCL)的氯仿溶液中,通过乳化法制备出外层为 PCL,内层为丝素纳米颗粒的微球,为装载并持续缓释敏感性药物提供了载体。

收稿日期:2016-06-29;修回日期:2016-09-05

基金项目:国家自然科学基金项目(51303141;51403163);湖北省教育厅重点实验室项目(154004)

作者简介:卢晨(1991-),女,硕士研究生在读,主要研究方向为蚕丝蛋白药物控释微载体,E-mail:13260656016@163.com。

\*通信作者:张强(1982-),副教授,E-mail:qiang.zhang@wtu.edu.cn。

与传统的喷雾干燥、溶剂挥发等方法相比,乳化法制备微球常温常压下可实现,且形成的微球形状理想,结构致密,载药量和缓释效果均比较理想;但微球基本为微米级,制备过程繁琐成本较高,难以实现规模化生产,且有机溶剂的残余会产生一定的生物学副作用甚至毒性,也会对环境保护造成压力。这在一定程度上限制了该方法的进一步推广和使用。

## 1.2 膜乳化法

膜乳化法制备微球是利用连续相在膜表面流动时,分散相在外压力作用下通过微孔膜的微孔在膜表面形成液滴,当液滴的直径达到某一临界值时便从膜表面剥离进入连续相;与此同时,溶解在连续相中的乳化剂会吸附在液滴的表面以降低液滴表面张力,促进液滴剥离膜表面,阻止了液滴聚集和粗化。Wang X Q等<sup>[12]</sup>以脂质体为模板制备了以辣根过氧化酶为模型药物、粒径约 $2\ \mu\text{m}$ 的丝素蛋白微球。Ito F等<sup>[13]</sup>利用玻璃膜乳化技术(SPG)结合溶剂挥发法,制备水溶性药物蓝色葡聚糖(blue dextran)的可生物降解聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)微球。影响膜乳化过程的参数主要包括膜微孔孔径和分布、膜的孔隙率、膜表面类型、乳化剂类型及含量、分散相流量、连续相速度、温度和操作压差等<sup>[14]</sup>。膜乳化法制备的微球表面光滑,粒径分布均一,微球单分散性好,包覆率高,突释效应小,微球制备重复性好<sup>[15-17]</sup>。但此法工艺较复杂,对所用模板的材料和性能要求较高,特别是纳米球的表面能大难以有效剥离,难制备,因此该方法在制备丝素微球应用中存在很大的局限性。

## 1.3 相分离法

相分离法是应用较为广泛的微球制备方法,其原理是将高分子材料溶解在互不相溶的两种液体中,利用材料在两种溶液中溶解性能的不同而形成微球,再采用过滤、冷冻干燥等方法得到微球。该法还可以通过改变制备环境温度、pH值及非有机溶剂种类等来实现相分离。相分离法包括单凝聚法、复凝聚法、溶剂-非溶剂法、盐析法等。

Wang X Q等<sup>[18]</sup>运用相分离法,使用聚乙烯醇(PVA)与丝素制备丝素微粒,获得了粒径为 $300\ \text{nm}$ — $20\ \mu\text{m}$ 、药物可控性和尺寸可控性较好的微球。Xie R J等<sup>[19]</sup>用油相分离凝聚法并以戊二醛为交联剂制备了平均粒径 $16.2$ — $34.7\ \mu\text{m}$ 、缓释效果较好的载药缓释微球。Yoo S H等<sup>[20]</sup>利用相分离法,通过在微球表面添加多壁碳纳米管制备了粒径为 $3$ — $5\ \mu\text{m}$ 的导电丝素

蛋白微球。Zhang Y Q等<sup>[21]</sup>将再生丝素溶液调节浓度为 $5\%$ (wt),磁力搅拌下快速注入过量丙酮中,离心、洗涤去除丙酮后制备了粒径为 $35$ — $125\ \text{nm}$ 的丝素纳米微球。用相分离法制备微球需要控制的因素较多,且要使用大量有机溶剂作为凝聚剂,易产生生物毒性、环境污染等问题,相分离方法不适合制备纳米微球粒。

用盐析法制备微球是利用蛋白质在溶液中溶解度的变化来实现的,也是相分离法的一种形式,主要是由于大量中性盐的加入降低了活度,即原来溶液中的大部分甚至全部的自由水分子转变为盐离子的水化水分子<sup>[22]</sup>。此时那些被迫与材料表面的疏水基团接触并掩盖这些疏水基团的水分子成为下一步可自由移动的水分子,因此当溶剂化的盐离子移去时留下暴露出来的疏水基团。随着盐浓度的增加,材料疏水表面进一步暴露,由于疏水作用材料聚集而沉淀。Lamme A S等<sup>[23]</sup>将磷酸钾加入到丝素蛋白溶液中,使丝素蛋白盐析出直径在 $486$ — $1\ 400\ \text{nm}$ 之间的颗粒,且当溶液的pH值在 $4$ — $9$ 范围内时,随着pH值的增大,微球的分散性逐渐增加,粘连较少。王娟等<sup>[24]</sup>采用离子诱导柞蚕丝蛋白形成直径为 $100$ — $400\ \text{nm}$ 、形状规整、分布均匀、产率可高达 $95\%$ 以上的丝素微球,且研究表明高价态的阳离子能够缩短微球形成时间,形成尺寸较小的微球。用盐析法制备载药微球,载药过程简单,二级结构可控较好,可制备出装载小分子量药物的丝素微粒是其优点,具备一定潜力。

## 1.4 溶剂法(共沉淀法)

1988年Ogawa等<sup>[25]</sup>首先提出使用溶剂蒸发法制备微球,它是将含有药物的水溶液(或者缓冲液)加入含有载体材料和与水不互溶的溶剂有机溶剂(如二氯甲烷)中,在乳化剂作用下经过高速搅拌或超声乳化器乳化形成水包油(W/O)或水包油包水(W/O/W)型乳化液。最后采用升温、减压抽提或连续搅拌等方法,蒸发去除有机溶剂,经过洗涤、离心和冷冻干燥制备成载药微球<sup>[26]</sup>。Chen等<sup>[27]</sup>采用共沉淀法制备了平均粒径为 $(398.7 \pm 99.86)\ \text{nm}$ 、载药率达 $4.53\% \pm 0.08\%$ 的微球。Srisuwan Y等<sup>[28]</sup>采用乳化溶剂挥发法制备了表面光滑、粒径为 $80$ — $150\ \mu\text{m}$ 的丝素微球。溶剂法具有操作简便、重现性好、包封率相对较高、无需特殊设备等优点,但也仍然存在控制手段要求严格、水溶性药物载药率低等问题。

## 1.5 喷雾干燥法

用喷雾干燥法制备微球是指在一定压力下将高分

子溶液以液滴的形式喷入热气流中,溶剂迅速蒸发后,液滴中的高分子形成微球或微囊的过程。Ye J 等<sup>[29]</sup>用微型喷雾干燥器在流速为 20 ml/min、85 °C 条件下获得平均粒径为 4—10 μm 丝素蛋白微球。邵正中<sup>[30]</sup>采用高压静电喷雾法制得了单分散且粒径可控的丝素蛋白微球,并通过在电喷液中添加水溶性药物或磁性无机粒子实现药物的包埋和靶向传递。采用喷雾干燥法制备微球,微球的形貌、直径等与高分子溶液的浓度、喷嘴直径、喷雾速度和温度等密切相关。可以直接从溶液中获得丝素微球,操作简单方便,微球载药稳定性和载药率相对较高,且载药率和药物释放速度都可在一定程度上加以控制。但是用喷雾干燥法制备微球常需要高温条件,对热敏感药物会带来致命损害,导致失活;高分子微球可能会出现粘连现象,对微球粒径控制非常困难;设备投资较大,不易实现规模化生产。

考虑到喷雾干燥法中高温条件所造成的不利影响,在喷雾干燥法基础上改进控温装置,可实现低温处理。低温喷雾干燥法类似于喷雾干燥法,区别在于溶液经喷头喷出之后进入冰冻的乙醇溶液,在-70 °C 条件下用乙醇除去有机溶剂,然后再去除乙醇经干燥得到微球。吴豪翔等<sup>[31]</sup>利用低温喷雾干燥法制备了包埋效率高的载药丝素微球。低温喷雾干燥法虽然制备微球工艺简单,可操作性强,但仍需要复杂仪器设备,且微球粒径不易控制。

### 1.6 自组装法

自组装是指具有纳米尺度的微粒子自发形成规则结构的过程。蛋白质和多肽等物质自组装主要是依靠氢键、静电相互作用和疏水作用等次价键作用力来实现的。Shi P 等<sup>[32]</sup>采用自组装方法制备了平均直径约为 980 nm 的丝素微球。Chen M 等<sup>[33]</sup>将模型药物紫杉醇(PTX)溶解在乙醇中,然后与丝素溶液混合,在-20 °C 的条件下冷冻 24 h 获得丝素微球。朱良均等<sup>[34]</sup>利用冷冻剪切自组装法,在不添加任何有毒化学交联剂的情况下制备了粒径为 1—5 μm 的丝素微球。Cheng C 等<sup>[35]</sup>利用自组装法制备丝素微球,并将微球与氯仿溶液共同制备成微胶囊,该微胶囊尺寸可控,可渗透性好。王春增等<sup>[36]</sup>利用冷冻干燥法制备呈圆形、粒径在 300—900 nm、载药率为 4.5% 左右的丝素蛋白(SF)/重组人骨形成蛋白 2(rhBMP-2)缓释微球。吉立静等<sup>[37]</sup>利用自组装制备了粒径为 210—320 nm、分散指数约 0.17、呈圆形、包封率及载药质量分数分别可

达 40.27% 及 1.22% 载有姜黄素的丝素蛋白微球;且研究表明随着丝素蛋白质量分数的增加,载药微球粒径增大。用自组装法制备微球生产工艺简单,反应条件温和,产量高、不引入有害溶剂,并可实现亲水性或疏水性两种药物的负载,应用前景广泛。但微球的尺寸及其分散性还有待优化。

### 1.7 电场调控法

用电场调控技术制备载药微球是利用丝素蛋白在电场正极电荷作用下发生聚集的现象,从而实现微球制备的过程。黄永利等<sup>[38]</sup>利用低压电场变化来调控丝素蛋白在溶液中的构象,在丝素溶液浓度低于 1% (wt) 的条件下制备丝素微球,并通过调节低压电场强度和作用时间,获得直径为 200 nm—3 μm 的丝素蛋白微球,异硫氰酸荧光素标记的牛血清蛋白(FITC-BSA)载药效果显示其缓释效果良好。

高压静电分化技术是一种利用电流体动力学射流技术制备高分子纳米粒子,或纤维状物质的方法<sup>[39]</sup>。Xie J 等<sup>[40]</sup>采用同轴高压静电喷射技术制备了大小为几个微米、缓释效果和药物活性良好的微球胶囊。Xu Q 等<sup>[41]</sup>通过同轴高压静电技术将阿霉素装载到 PLGA 中的同时在外层包裹一层聚乳酸(PLLA),实现药物的缓慢释放。Leisk G G 等<sup>[42]</sup>研究发现,在低压电场作用下,丝素蛋白能在正极形成含有大量亚微米尺度微球的类凝胶物质,其在室温和体温下能够保持稳定。在此基础上通过对丝素蛋白溶液进行预处理,成功制备出具有不同尺度的微球。王璐等<sup>[43]</sup>采用同轴高压静电技术和冷冻干燥法制备了粒径为 100—500 μm 的具有壳层多孔结构的载药微球,在此基础上瞿静等<sup>[44]</sup>采用高压静电分化和冷冻干燥相结合的技术制备了粒径为 170—224 nm、球形,粒径分布均匀、分散性较好、可控性较好的丝素蛋白纳米颗粒。Qu J 等<sup>[45]</sup>同样利用高压静电法制备了粒径约为 208.4—727.3 μm 的表面孔径为 0.3—10 μm 的多孔丝素微球。Wesher W 等<sup>[46]</sup>采用层流技术制备了粒径为 101—440 μm 的丝素蛋白微球,且微粒的直径与喷嘴的直径、丝素蛋白的预处理有着密切的关系。用电场调控制备微球,条件温和(低压电场、室温或低温、水环境),更有利于温度敏感药物如蛋白质药物的包覆。不用或少用有机溶剂,无生物毒副作用等优点使得此法具有较好的应用前景。

### 1.8 超临界流体技术

用超临界流体技术制备微球在近几年受到研究者

的重视,超临界流体是指超过临界点高温高压的状态。它是利用溶液中溶质在超临界状态附近溶解度的变化来制备微球,其常用方法有三种:超临界溶液快速膨胀(RESS)、气体抗溶剂(GAS)、超临界抗溶剂(SAS)。超临界溶液快速膨胀法就是将模型药物溶解在超临界流体中,然后通过小孔喷出,超临界溶液快速膨胀解压,溶质溶解能力降低而析出形成均一的微球。此法适用于能够溶解于超临界流体的物质,不太适用于蛋白质微球的制备。气体抗溶剂和超临界抗溶剂比较类似,先将溶质溶解于有机溶剂中,然后与超流体接触,超临界流体与有机溶剂互溶的结果使得有机溶剂丧失对原有溶质的溶解能力,原来的溶质析出形成颗粒<sup>[47]</sup>。制备微球时,蛋白质可以和载体材料同时溶解在极性溶剂中,或以颗粒形式悬浮于溶解了载体材料的溶剂中。所得颗粒的性质与使用的溶剂和抗溶剂的种类、制备温度和压力、操作方式都有关。GAS/SAS过程制备微球技术的优点是过程简单,通常只需一步即可完成,颗粒的粒径小,分布窄,使用溶剂量少,溶剂残留量很少,条件相对温和,对药物破坏小等。但该方法的缺点也比较明显,比较适合于结晶度较高的聚合物,对于无定形或结晶度很低的聚合物,则由于聚合物在超临界流体中被塑化而很难形成颗粒。此外,由于该技术的研究还不深入,目前尚未见到比较理想的封装率和回收率,体外和体内药物释放的数据也不多。

### 1.9 其他制备方法

Solgas等<sup>[48]</sup>采用以硅为核心,利用甲醇溶液诱导变性,丝素溶液层层包覆的方法制备了粒径为 $3.5\ \mu\text{m}$ 左右、粒径可控的丝素微球。Zhang X L等<sup>[49]</sup>利用生物模板矿化法制备了粒径为 $100\text{--}1\ 000\ \text{nm}$ 的丝素蛋白微球,采用生物模板矿化法制备微球可以很好地控制微粒的尺寸。Wen X G等<sup>[50]</sup>利用超细粒子处理系统法制备了包覆增强型绿色荧光的丝素微球,微球的包覆率高达95%。Shi L B等<sup>[51]</sup>将5%(wt)丝素溶液在 $37\ ^\circ\text{C}$ 条件下浓缩5 h获得固体状丝素,经粉碎、筛选获得粒径约为 $150\ \mu\text{m}$ 的丝素微球。

## 2 改善微球粒径和分布的策略

微球的粒径及粒径均一性是影响微球载药和药物缓释的决定性因素。目前制备微球的方法要精确控制微球的尺寸,尤其是纳米级微球尺寸和均匀分散控制,仍存在挑战。因此精确控制粒径大小和均匀分散,真正实现丝素纳米微球粒径及分布的可控性,将极大地

促进丝素纳米微球在药物缓释和再生医学领域的应用。对于不同要求的丝素微球,其成型也常采用不同的手段和策略。首先,在制备过程中注意各个参数的调控、条件优化及相关设备的改进。以乳化法为例,可以通过对乳化时间、搅拌速率、乳化剂种类、有机溶剂种类及相关比例进行调控,从而达到对微球粒径及其分布控制的目的。其次,在丝素蛋白的再生过程中,丝素分子量的分布是一个较宽的范围,如果能实现对丝素蛋白分子量的精确控制,则易于对其形成的丝素微球的尺寸等参数进行调控。再次,在丝素微球制备过程中,通过添加另一高分子材料如多糖<sup>[52]</sup>等,改变丝素溶液的化学势,能有效促进丝素大分子的自组装,实现丝素微球参数的调控。最后,利用两种或以上高分子材料复合形成壳-核结构微球或层层组装结构,可以有效调控微球的粒径分布、缓释效果和降解速率,甚至有可能实现长期等速给药释放,避免出现突释效应。

## 3 展望

丝素蛋白微球具有良好的表面效应,应用在生物医药方面可实现靶向治疗减少药物用量,提高药物的使用效率和利用率,减轻药物的毒副作用,提高药物特别是蛋白质类敏感性药物的稳定性,改善难溶性药物的吸收等。且其生物降解速率可通过调控微球的粒径和二级结构来实现,因此丝素蛋白作为药物缓释载体具有巨大潜力。但是在目前丝素蛋白微球的制备过程中微球尺寸大小,微球的分散性及结构稳定性等仍存在一定的问題。首先,再生丝素溶液的分子量不能精确控制,导致丝素微球的尺寸不匀,如何精确分级获得丝素蛋白大分子是丝素微球尺寸均匀的前提。其次,在微球制备过程中,尽量少或不引入有毒化学试剂,如可考虑利用电场调控结合自组装的方法来制备丝素微球。再次,根据丝素微球的特性,选择合适的模型药物是科学评价微球载药和缓释的必要条件。最后,充分研究丝素微球结构、形貌与其释放性能、靶向作用的关系,进而指导微球的制备和优化,以更好地满足载药缓释的要求。尽管对丝蛋白微球的研究已取得了很多创新性成果,但至今仍未有真正市场化的产品出现。因此如何获得理想的丝素微球以促进生物医学的进步,改善人类的健康依然充满挑战。

### 参考文献:

[1] Moy R L, Lee A, Zalka A. Commonly used suture mate-

- rials in skin surgery[J]. *Am Fam Physican*, 1991, 44: 2 123-2 128.
- [2] 宁 丽, 薛 森, 黄海宁, 等. 皮肤再生膜的生物相容性系列研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2000, 14(1): 44-48.
- [3] Han F, Liu S, Liu X, *et al.* Woven silk fabric-reinforced silk nanofibrous scaffolds for regenerating load-bearing soft tissues[J]. *Acta Biomater*, 2014, (10): 921-930.
- [4] 高志贤, 李小强. 纳米生物医药[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [5] 杨道伟, 王厚伟, 田景振, 等. 二甲双胍丝素微球的制备工艺研究[J]. *药学研究*, 2013, 32(2): 97-100.
- [6] 叶漫文, 曾曙光, 高文峰, 等. 京尼平交联的丝素蛋白壳聚糖缓释微球的制备与表征[J]. *基础研究*, 2014, 34(6): 875-879.
- [7] Juthamas R, Sorada K, Siriporn D. The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine[J]. *Mater Sci: Mater Med*, 2014, 25(2): 401-410.
- [8] Go N K, Lee J S, Lee J H, *et al.* Growth cell cycle progression and morphology of 3T3 cells following fibroin microsphere ingestion[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2015, 103(4): 1 325-1 331.
- [9] Sinthop S, Patumraj S, Kanokpanont S. Development of gelatin-thai silk fibroin microspheres for three dimensional cell culture[J]. *Advanced Materials Research*, 2014, 931-932: 200-204.
- [10] Mangkorn S A, Yodthong B. Controlling on formational-ransition of silk ibroin microspheres by water vapor for controlled release drug delivery[J]. *Particulate Science and Technology*, 2013, (31): 379-384.
- [11] Cheng C, Teasdale I, Bruggemann. Stimuli-responsive capsules prepared from regenerated silk fibroin microspheres[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2014, 14(6): 807-816.
- [12] Wang X Q, Wenk E, Kaplan D L. Silk microspheres for encapsulation and controlled release[J]. *Journal of Control Release*, 2007, 117(3): 360-370.
- [13] Ito F, Honnami H, Kawakami H, *et al.* Preparation and properties of PLGA microspheres containing hydrophilic drugs by the SPG(shirasu porous glass)membrane emulsification technique[J]. *Colloids Surf Biointerfaces*, 2008, 67(1): 20-25.
- [14] 殷爱玲, 樊文玲, 郭立玮. 膜乳化法及其在微粒给药系统中的应用[J]. *世界科学技术—中医药现代化—技术应用研究*, 2012, 14(2): 1 512-1 518.
- [15] 王连燕, 马光辉. 尺寸均一的微球和微囊的制备及作为药物载体的应用[A]. 生物颗粒与粉体制备、应用技术研讨会论文集(C). 上海: 中国颗粒学会, 2010.
- [16] Vladislavjevic G, Shimizu M, Nakashima T. Production of multiple emulsions for drug delivery systems by repeated SPG membrane homogenization; influence of mean pore size, interfacial tension and continuous phase viscosity[J]. *Membr Sic*, 2006, 284(1-2): 373-383.
- [17] 曹文佳, 栾瀚森, 王 浩. 膜乳化法在药学中的应用[J]. *中国医药工业杂志*, 2014, 45(6): 582-588.
- [18] Wang X Q, Yucel T, Lu Q, *et al.* Silk nano-spheres and microspheres from silk/PVA blend films for drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2009, 31(6): 1-11.
- [19] Xie R J, Li M Z, Wu H Y, *et al.* The preparation of silk fibroin microspheres[J]. *Chemical Industry Press*, 2007, (9): 341-345.
- [20] Yoon S H, Kang M, Kim H S, *et al.* Electrically conducting silk fibroin microspheres by incorporation of multi-walled carbon nanotubes on their surfaces[J]. *Materials Science Forum*, 2007, 544: 977-980.
- [21] Zhang Y Q, Shen W D, Xiang R L, *et al.* Ormation of silk fibroin nanoparticles in water-miscible organic solvent and their characterization[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2007, 9(5): 885-900.
- [22] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(第三版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 305-306.
- [23] Lamme A S, Hu X, Park S H, *et al.* Controlling silk fibroin particle features for drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(16): 4 583-4 591.
- [24] 王 娟. 离子诱导炸蚕丝素蛋白微球的形成及其在药物缓释上的应用[D]. 江苏: 苏州大学, 2014.
- [25] Ogawy Y, Yamamoto M, Okada H, *et al.* A new technique to efficiently entrap leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly(lactic glycolic acid)[J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36: 1 095-1 103.
- [26] Truter E J. Heat-stabilized albumin microspheres asam-sustained drug-delivery system for the antimetabolite, 5-fluorour-acil[J]. *Artif Cell Blood Sub*, 1995, 23(5): 579-586.
- [27] Chen L, Gu Y, Feng Y, *et al.* Bioactivity of porous biphasic calcium phosphate enhanced by recombinant human bone morphogenetic protein 2/silk fibroin microsphere[J]. *Mater Sci: Mater Med*, 2014, (25): 1 709-1 719.
- [28] Srisuwang Y, Srihanam P, Baimark Y. Preparation of silk fibroin microspheres and its application to protein adsorption[J]. *Journal of Macromolecular Science, Pure and Applied Chemistry*, 2009, 46(5): 521-525.
- [29] Yeo J, Lee K, Lee Y, *et al.* Simple preparation and char-

- acteristics of silk fibroin microsphere[J]. *European Polymer Journal*, 2003, 39(6): 1 195—1 199.
- [30] 邵正中,袁青青,陈 新.用静电喷射技术制备的丝蛋白纳米微球及其制备方法和制备装置[P]. 中国专利: 200910195454.8, 2010-02-24.
- [31] 吴豪翔,王 彦,胡豆豆,等.一种丝素微球的制备方法[P].中国专利:103341175, 2013-10-9.
- [32] Shi P, Goh J C H. Release and cellular acceptance of multiple drugs loaded silk fibroin particles[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 420(2): 282—289.
- [33] Chen M, Shao Z, Chen X. Paclitaxel-loaded silk fibroin nanospheres[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2012, 100(1): 203—210.
- [34] 朱良均,潘岳林,张梅萍,等.一种制备丝素微球的自主装方法[P]. 中国专利: 103965310, 2014-8-6.
- [35] Cheng C, Ian T, Oliver B. Stimuli-responsive capsules prepared from regenerated silk fibroin microsphere [J]. *Macromolecular Bioscience*, 2014, 14(6): 807—816.
- [36] 王春增,陈 亮,顾 勇.丝素蛋白/骨形成蛋白2微球制备及其活性研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, (7): 1 419—1 421.
- [37] 吉立静,朱晶心,贾 兰,等.姜黄素丝素蛋白微球的制备及药物释放研究[J]. *丝绸*, 2015, (7): 8—13.
- [38] 黄永利,吕 强,李明忠,等.电场调控载药丝素蛋白微球的制备[J]. *科学通报*, 2011, 56(13): 1 013—1 018.
- [39] Greiner A, Wendorff H. Electrospinning a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46 (30): 5 670—5 703.
- [40] Xie J, Ng W J, Lee L Y, *et al.* Encapsulation of protein drugs in biodegradable microparticles by co-axial electrospay[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 317(2): 469—476.
- [41] Xu Q, Chin S E, Wang C H, *et al.* Mechanism of drug release from double-walled PDLA (PLGA) microspheres [J]. *Biomaterial*, 2013, 34(15): 3 902—3 911.
- [42] Leisk G G, Lo T J, Yucel T, *et al.* Electrogelation for protein adhesives[J]. *Adv Mater*, 2010, (22): 711—715.
- [43] 王 璐.一种丝素蛋白微载体及其制备方法[P]. 中国专利: 101972481, 2011-2-16.
- [44] 瞿 静.静电分化法制备丝素纳米颗粒及其作为顺铂控释载体的研究[D].江苏:苏州大学, 2013.
- [45] Qu J, Wang L, Hu Y P, *et al.* Preparation of silk fibroin microspheres and its cytocompatibility[J]. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2013, (4): 84—90.
- [46] Esther W, Anne J, Wandrey, *et al.* Silk fibroin spheres as a platform for controlled drug delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, (132): 26—34.
- [47] Jung J, Perryt M. Particle design using supercritical fluids: literature and patent survey[J]. *Supercritical Fluids*, 2001, 20(3): 179—219.
- [48] Olga S, Irina D, Maneesh K, *et al.* Silk-on-silk layer-by-layer microcapsules[J]. *Adv Mater*, 2011, (23): 4 655—4 660.
- [49] Zhang X L, Fan Z H, Lu Q, *et al.* Hierarchical biomineralization of calcium carbonate regulated by silk microspheres[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, (9): 6 974—6 980.
- [50] Wen X G, Peng X S, Fu H, *et al.* Preparation and in vitro evaluation of silk fibroin microspheres produced by a novel ultra-fine particle processing system [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 416(1): 195—201.
- [51] Shi L B, Cai H X, Chen L K, *et al.* Tissue engineered bulking agent with adipose-derived stem cells and silk fibroin microspheres for the treatment of intrinsic urethral sphincter deficiency [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(5): 1 519—1 530.
- [52] Yan S Q, Zhang Q, Wang J N, *et al.* Silk fibroin/chondroitin sulfate/hyaluronic acid ternary scaffolds for dermal tissue reconstruction [J]. *Acta Biomater*, 2013, (9): 6 771—6 782.

## Research Progress of the Preparation Methods of Silk Fibroin Microsphere

LU Chen, ZHANG Jie, WANG Ya-fei, LONG Dan, YAN Shu-qin, ZHANG Qiang\*

(Advanced National and Local Joint Engineering Laboratory of Spinning, Weaving and Clean Produce, Wuhan Textile University, Wuhan 430073, China)

**Abstract:** Silk fibroin microspheres were research hotspots in domestic and foreign drug delivery research field. The current research status of silk fibroin drug release microspheres prepared by different principles and methods and the reason for difficult to industrialization were summarized. The existing problems of silk fibroin microspheres molding were analyzed. The solutions and the prospects of silk fibroin microsphere preparation and application were proposed.

**Key words:** silk fibroin; microsphere; preparation method; research progress