



Review Article

Extended Drug Release Characteristics of Biodegradable Poly(lactic-co-glycolic acid) Microspheres: Overview

Ngo Giao Thong¹, Nghiem Thi Ha Lien², Tran Thi Hai Yen^{1,*}

¹*Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

²*Institute of Physics, Vietnam Academy of Science and Technology, 10 Dao Tan, Ba Dinh, Hanoi, Vietnam*

Received 29th April 2025

Revised 13th May 2025; Accepted 15th May 2025

Abstract: Due to biodegradation and extended drug release from weeks to months, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres are increasingly researched and developed to load different types of active pharmaceutical ingredients with various therapy goals. However, limits in knowledge of the drug release mechanism, release model, and influential factors impede the preparation of appropriate microspheres for patients' treatment requirements. Therefore, this overview aims to provide a better insight into the extended drug release characteristics of PLGA microspheres (drug release mechanism and release model) as well as influential factors (PLGA types, particle size, and pore density of microspheres) to support the research and development of microspheres formulations.

Keywords: Microsphere, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), biodegradable, extended drug release, release mechanism.

* Corresponding author.

E-mail address: yenthth@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4768>

Tổng quan về đặc tính giải phóng dược chất kéo dài của vi cầu phân huỷ sinh học poly(lactic-co-glycolic acid)

Ngô Giao Thông¹, Nghiêm Thị Hà Liên², Trần Thị Hải Yến^{1,*}

¹*Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam*

²*Viện Vật lý, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 10 Đào Tấn, Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 29 tháng 4 năm 2025

Chỉnh sửa ngày 13 tháng 5 năm 2025; Chấp nhận đăng ngày 15 tháng 5 năm 2025

Tóm tắt: Vi cầu poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) đang ngày càng được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu - phát triển để mang nhiều loại dược chất phù hợp với mục tiêu điều trị khác nhau do hệ phân phối thuốc này có khả năng phân huỷ sinh học và giúp giải phóng dược chất kéo dài từ nhiều tuần đến nhiều tháng. Tuy nhiên, do những hiểu biết về cơ chế và mô hình giải phóng dược chất cũng như các yếu tố ảnh hưởng đến đặc tính này của vi cầu còn hạn chế nên việc bào chế vi cầu phù hợp với yêu cầu điều trị của bệnh nhân còn gặp nhiều khó khăn. Từ những lý do trên, nghiên cứu tổng quan này mong muốn cung cấp những hiểu biết quan trọng về đặc tính kiểm soát và kéo dài giải phóng dược chất của vi cầu PLGA (mô hình, cơ chế giải phóng dược chất) cùng các yếu tố ảnh hưởng (loại PLGA, kích thước và mật độ lỗ xốp vi cầu) để phục vụ nghiên cứu phát triển công thức vi cầu.

Từ khoá: Vi cầu, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), phân huỷ sinh học, giải phóng dược chất kéo dài, cơ chế giải phóng.

1. Giới thiệu về vi cầu phân huỷ sinh học

1.1. Vi cầu phân huỷ sinh học

Vi cầu là hệ phân phối thuốc có dạng hình cầu, kích thước trong phạm vi từ 1 đến 1000 μm (thường từ 1 - 800 μm), có khả năng mang nhiều loại dược chất khác nhau như kháng sinh, chất chống viêm, chất chống oxy hóa, dược chất hướng đích khối u và/hoặc ADN [1]. Vi cầu thường được bào chế từ các polyme có khả năng phân huỷ sinh học như chitosan, natri alginate [2, 3], poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) [4, 5], poly(ethylene glycol) (PEG) [6],... Trong đó, vi

cầu PLGA đang được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất trong những gần đây. Từ năm 1989 cho đến nay, đã có 19 sản phẩm thuốc chứa vi cầu PLGA được FDA cấp phép sử dụng trên lâm sàng (Bảng 1). Vi cầu PLGA, với ưu điểm là giải phóng dược chất kéo dài từ vài tuần đến vài tháng đã giúp giảm bớt sự phức tạp của phác đồ điều trị và nâng cao tuân thủ điều trị của bệnh nhân [7, 8]. Ngoài ra, vi cầu PLGA cũng đóng vai trò quan trọng trong các phác đồ điều trị hướng đích, vì chúng có thể vận chuyển dược chất đến chính xác đích tác dụng, giúp tăng nồng độ thuốc tại đích và giảm phơi nhiễm toàn thân [9].

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: yentth@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4768>

Bảng 1. Các sản phẩm thuốc chứa vi cầu PLGA được FDA phê duyệt [10]

Tên sản phẩm	Dược chất	Thời gian giải phóng kéo dài	Năm cấp phép
Lupron Depot®	Leuprolid acetat	1, 3, 4, 6 tháng	1989
Zoladex® Depot	Goserelin acetat	1, 3 tháng	1989
Sandostatin® LAR	Octreotid acetat	1 tháng	1998
Atridox®	Doxycyclin hyclat	1 tuần	1998
Nutropin Depot®	Somatotropin	1 tháng	1999
Trelstar®	Triptorelin pamoat	1, 3, 6 tháng	2000
Somatuline® Depot	Lanreotid	1 tháng	2000
Arestin®	Minocyclin hydroclorid	2 tuần	2001
Eligard®	Leuprolid acetat	1, 3, 4, 6 tháng	2002
Risperidal Consta ®	Risperidon	2 tuần	2003
Vivitrol®	Naltrexon	1 tháng	2006
Ozurdex®	Dexamethason	3 tháng	2009
Propel®	Mometason furoat	1 tháng	2011
Bydureon®	Exenatid	1 tuần	2012
Lupaneta Pack™	Leuprolid acetat	3 tháng	2012
Signifor® LAR	Pasireotid	1 tháng	2014
Zilretta®	Triamcinolon acetat	3 tháng	2017
Sublocade™	Buprenorphin	1 tháng	2017
Perseris™	Risperidon	1 tháng	2018

1.2. Polyme phân hủy sinh học PLGA

PLGA là một polyme tổng hợp, được cấu tạo từ các đơn phân gồm acid lactic và acid glycolic. Sự khác nhau về khối lượng phân tử (KLPT), tỷ lệ acid lactic:acid glycolic (L:G) và nhóm chức tận cùng trong mạch polyme (acid/este) đã tạo ra nhiều loại PLGA có khả năng ứng dụng vào trong lĩnh vực dược phẩm. Để tạo ra được hệ phân phối thuốc phù hợp với mục tiêu điều trị, cần thiết phải xem xét đặc tính lý hoá và khả năng phân hủy sinh học của PLGA.

1.2.1. Đặc tính lý hoá

Do acid lactic kỵ nước hơn acid glycolic nên phân tử PLGA có tỷ lệ acid lactic càng cao thì càng kỵ nước. Các loại PLGA có tỷ lệ acid lactic dưới 50% sẽ chỉ tan trong các dung môi chứa flo, chẳng hạn như hexafluoroisopropanol. Khi tỷ lệ L:G tăng lên, PLGA sẽ tan được trong nhiều loại dung môi khác nhau. Ví dụ, PLGA 75:25 tan được trong benzyl alcohol, clorobenzen và 2-

methy tetrahydrofuran, còn PLGA 70:30 thì không [8]. Tỷ lệ L:G có ý nghĩa quan trọng đối với việc lựa chọn dung môi thích hợp để hoà tan PLGA trong quá trình bào chế hệ phân phối thuốc.

Nhiệt độ chuyển thủy tinh (T_g) của PLGA thường cao hơn 37 °C. Điều này giúp duy trì cấu trúc cũng độ bền cơ học của PLGA trong cơ thể người, từ đó giúp kiểm soát thành công quá trình giải phóng thuốc. Khi tỷ lệ L:G hoặc KLPT của PLGA tăng, T_g của PLGA cũng tăng. Phương trình thực nghiệm Flory-Fox giúp mô tả mối quan hệ giữa KLPT và T_g của PLGA [11]:

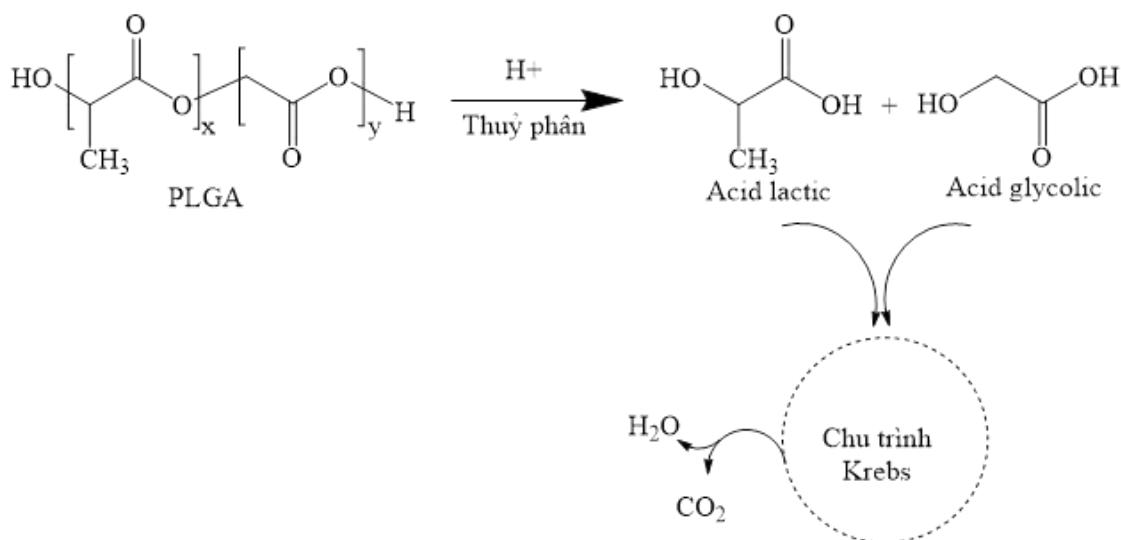
$$T_g = T_{g,\infty} - \frac{K}{M_n}$$

Trong đó: $T_{g,\infty}$ là nhiệt độ chuyển thủy tinh cao nhất của polyme có KLPT vô cùng lớn trong điều kiện lý tưởng, K là tham số thực nghiệm có liên quan đến “thể tích tự do” (khoảng không gian trống giữa các phân tử polyme), M_n là KLPT trung bình của polyme đã cho.

1.2.2. Đặc tính phân hủy sinh học

Nhờ khả năng phân hủy sinh học và tính tương thích sinh học cao, PLGA là một trong số ít polyme được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) và Cơ quan Quản lý Dược phẩm Châu Âu (EMA) cho phép sử dụng trong điều trị lâm sàng [7]. Trong cơ thể người, PLGA bị thủy phân thành acid lactic và acid glycolic thông qua quá trình cắt đứt các liên kết este. Sau

đó, nhờ chu trình Krebs, acid lactic và acid glycolic được chuyển hoá thành các sản phẩm không độc hại là nước và carbon dioxid [13] (Hình 1). PLGA có ổn định cao trong nhiều môi trường sinh học khác nhau, giúp bảo vệ dược chất tránh khỏi các tác động của enzyme, chất oxy hóa và tác nhân gây hại khác [14]. Vì vậy, PLGA là một ứng cử viên nổi bật cho các hệ phân phối thuốc dùng đường tiêm hoặc dùng để cấy ghép.

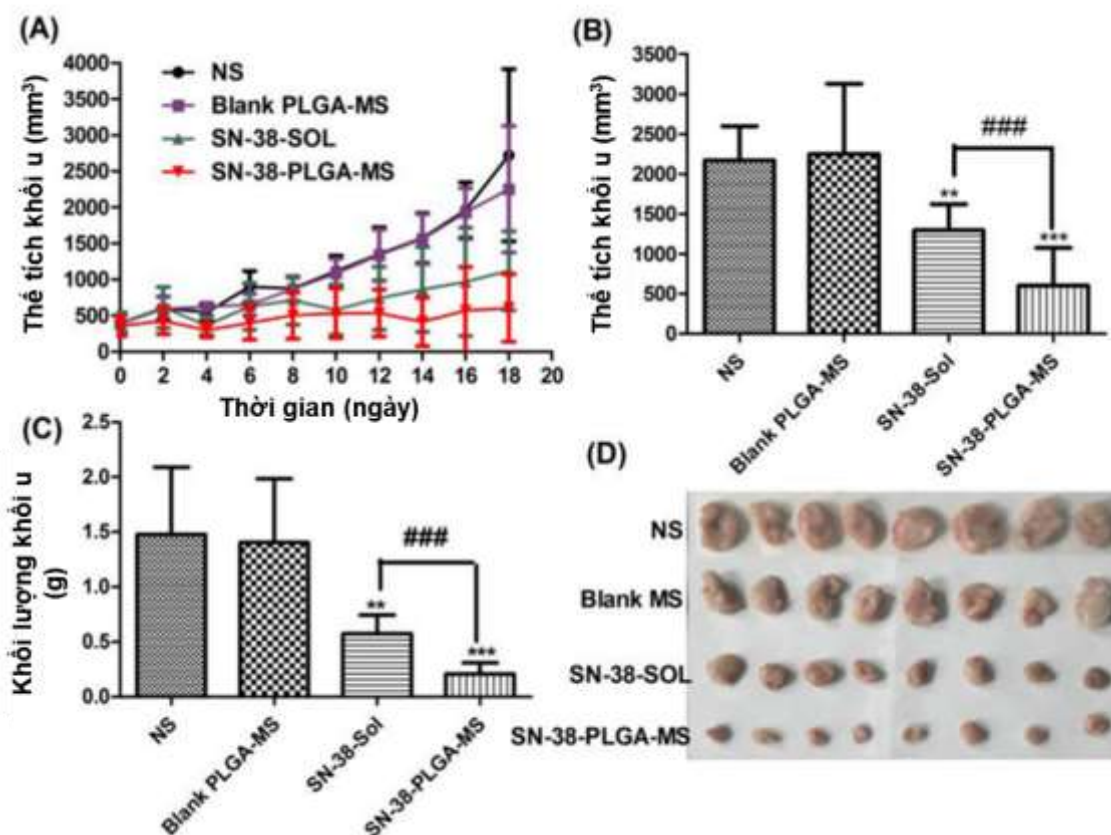


Hình 1. Quá trình phân hủy PLGA trong cơ thể người [12].

1.3. Xu hướng nghiên cứu-phát triển vi cầu PLGA

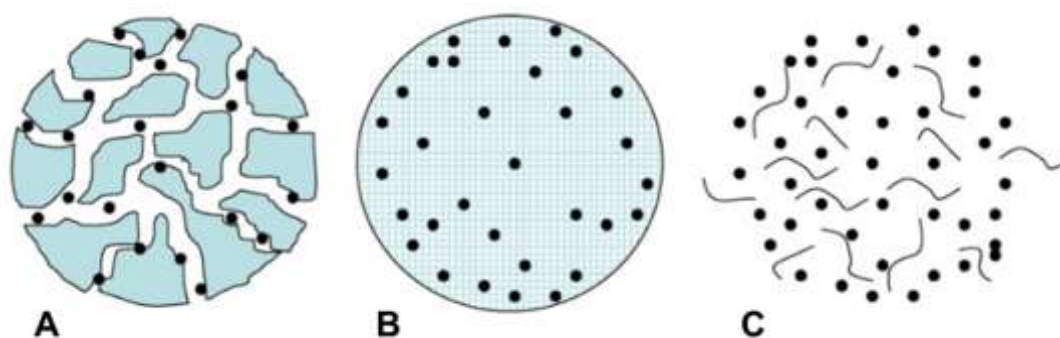
Do sinh lý bệnh ung thư rất phức tạp nên các phương pháp hóa trị liệu thông thường có thể không đạt được hiệu quả mong muốn và gây tổn thương cho các mô cũng như cơ quan bình thường. Vì vậy, trong những năm gần đây, các vi cầu PLGA phân hủy sinh học đã được nghiên cứu - phát triển để mang thuốc điều trị nhiều loại ung thư khác nhau với mục đích cải thiện khả năng hướng đích cũng như kéo dài thời gian tác dụng của thuốc. Hao và cộng sự (năm 2019) đã bào chế vi cầu PLGA mang 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38), sau đó tiến hành thử tác dụng trên mô hình chuột thí nghiệm mang tế bào ung thư H22 (tế bào ung thư biểu mô gan được phân lập từ khối u gan ở chuột). Kết quả

cho thấy: sau khi tiêm dung dịch SN-38 hoặc hỗn dịch vi cầu PLGA mang SN-38 vào khối u với liều 10 mg/kg chuột thí nghiệm, kích thước khối u đều giảm so với nhóm chứng (Hình 2). Tuy nhiên, thể tích và khối lượng khối u ở nhóm chuột được tiêm hỗn dịch vi cầu PLGA mang SN-38 đều nhỏ hơn hẳn so với nhóm chuột được tiêm dung dịch SN-38 (Hình 2b-d). Ngoài ra, chỉ số ức chế tăng trưởng khối u, thời gian nhân đôi khối u và tốc độ tăng trưởng khối u đặc hiệu sau khi tiêm hỗn dịch vi cầu PLGA mang SN-38 lần lượt bằng 1,42 lần, 1,97 lần và 0,51 lần so với khi tiêm dung dịch SN-38. Điều này đã chứng minh tiềm năng cũng như hiệu quả vượt trội của các vi cầu PLGA trong việc phân phối dược chất kháng ung thư so với các dạng bào chế quy ước [15].



Hình 2. Kết quả nghiên cứu của Hao và cộng sự (năm 2019) về vi cầu PLGA mang SN-38. Trong đó: (a) Sự thay đổi thể tích khối u theo thời gian; (b) Thể tích khối u ở ngày 18; (c) Khối lượng khối u ở ngày 18; (d) Ảnh chụp khối u ở ngày 18 của các nhóm chuột được tiêm dung dịch đệm salin, hỗn dịch vi cầu PLGA không mang dược chất, dung dịch SN-38 và hỗn dịch vi cầu PLGA mang SN-38 ($n=8$, ** hoặc ### $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) [15].

2. Cơ chế giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA



Hình 3. Các cơ chế liên quan đến quá trình giải phóng dược chất: (a) khuếch tán qua hệ thống lỗ xốp, (b) khuếch tán qua mạng lưới polyme, (c) ăn mòn [16].

Quá trình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA có thể chịu tác động của một hoặc nhiều cơ chế khác nhau, trong đó có ba cơ chế thường gặp (Hình 3), bao gồm:

i) Khuếch tán qua hệ thống lỗ xốp: đây là cơ chế giải phóng chủ yếu đối với các dược chất thân nước, KLPT lớn như octreotid acetat, leuprolid acetat. Trong quá trình thử giải phóng, lỗ xốp sẽ hình thành cả trên bề mặt và trong lòng vi cầu, theo thời gian chúng sẽ tăng dần về cả số lượng lẫn kích thước, tạo thành hệ thống kênh dẫn nước liên tục, giúp khuếch tán dược chất từ môi trường nội vi cầu ra môi trường ngoại vi cầu [17]. Quá trình khuếch tán dược chất qua hệ thống lỗ xốp chủ yếu xảy ra ở những ngày đầu của quá trình giải phóng, khi vi cầu chưa bị vỡ và vẫn còn giữ nguyên hình dạng cầu [18]. Cơ chế này phụ thuộc rất lớn vào độ xốp của vi cầu cũng như quá trình hình thành và đóng-mở các lỗ xốp [19];

ii) Khuếch tán qua mạng lưới polyme: PLGA có tính kỵ nước, đóng vai trò như một hàng rào bảo vệ, ngăn cản quá trình giải phóng ở ạt dược chất ra môi trường bên ngoài. Với các dược chất thân nước, việc khuếch tán trực tiếp qua mạng lưới polyme tương đối khó khăn. Vì vậy, cơ chế này thường xảy ra ở các dược chất kỵ nước có KLPT nhỏ. Khác với cơ chế khuếch tán qua hệ thống lỗ xốp, cơ chế khuếch tán dược chất qua mạng lưới PLGA không phụ thuộc vào độ xốp của vi cầu, mà phụ thuộc vào tính linh động của chuỗi polyme. Khả năng khuếch tán dược chất sẽ tăng lên khi PLGA chuyển từ trạng thái thủy tinh sang trạng thái lỏng nhớt [16];

iii) Ăn mòn: sau khi vi cầu tiếp xúc với môi trường thử giải phóng, chuỗi PLGA bị thủy phân, làm đứt các liên kết este, tạo thành các oligome và monome có tính acid. Môi trường acid lại là yếu tố thuận lợi giúp quá trình thoái hoá mạng lưới PLGA diễn ra nhanh hơn. Đây chính là hiện tượng “tự xúc tác” trong cơ chế ăn mòn vi cầu. Tại những ngày đầu thử giải phóng, quá trình ăn mòn vi cầu diễn ra tương đối chậm chạp, giúp hình thành hệ thống lỗ xốp dày đặc ở trên bề mặt và trong lòng vi cầu, từ đó thúc đẩy quá trình giải phóng dược chất theo cơ chế khuếch tán. Ở giai đoạn muộn, quá trình ăn mòn

toàn bộ mạng lưới polyme diễn ra vô cùng mạnh mẽ, giúp giải phóng trực tiếp dược chất mà không cần phải vận chuyển từ trong lòng vi cầu ra ngoài môi trường [18, 20].

3. Mô hình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA

Quá trình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA có thể tuân theo mô hình hai pha hoặc mô hình ba pha. Mô hình hai pha bao gồm: pha giải phóng ở ạt ban đầu và pha giải phóng ổn định. Mô hình ba pha bao gồm: pha giải phóng ở ạt ban đầu, pha giải phóng chậm và pha giải phóng nhanh [21].

Pha giải phóng ở ạt là một đặc điểm thường gặp ở các hệ phân phối thuốc chứa cốt polyme, trong đó, một lượng lớn dược chất (khoảng 10-80% lượng dược chất được nạp vào vi cầu) sẽ được giải phóng trong thời gian ngắn ngay sau khi tiêm [22]. Nguyên nhân chủ yếu dẫn tới pha giải phóng ở ạt là do sự giải phóng nhanh các phân tử dược chất còn đang liên kết lỏng lẻo với bề mặt của hệ mang thuốc hoặc sự khuếch tán nhanh dược chất thông qua hệ thống lỗ xốp. Do đó để giảm lượng dược chất giải phóng trong pha ở ạt có thể tiến hành làm tăng mức độ liên kết của dược chất với bề mặt vi cầu. Chẳng hạn, Zheng và cộng sự (năm 2010) đã thêm alginat vào thành phần pha nước nội, đồng thời thêm calci clorid và chitosan vào thành phần pha nước ngoại. Kết quả cho thấy lượng dược chất giải phóng trong pha ở ạt giảm 3-6 lần khi thêm 0,75%-1,5% alginat so với các vi cầu PLGA nguyên bản, trong khi hiệu suất nạp dược chất không thay đổi. Nguyên nhân của hiện tượng này là do sự xuất hiện của tương tác tĩnh điện giữa lớp màng alginat/chitosan và albumin huyết thanh bò [23].

Pha giải phóng chậm là một giai đoạn ổn định, trong đó, dược chất sẽ được giải phóng một cách từ từ ra khỏi vi cầu [18, 21]. Pha giải phóng chậm xuất hiện là do tính lưu động của lớp polyme cao, khả năng hấp thụ nước thấp và sự suy thoái của PLGA ở trạng thái thủy tinh, dẫn đến bề mặt vi cầu ít lỗ xốp hơn và dược chất khó khuếch tán qua mạng lưới polyme hơn [24]. Để

quá trình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA được diễn ra liên tục thì việc tối ưu hoá pha giải phóng chậm là nhiệm vụ cấp thiết. Một số nghiên cứu trên thế giới đã được thực hiện nhằm tìm ra giải pháp giúp tăng tốc độ giải phóng dược chất và rút ngắn pha giải phóng chậm:

Giải pháp thứ nhất: kết hợp PLGA có KLPT thấp với PLGA có KLPT cao. Nguyên lý cơ bản của giải pháp này được các nhà khoa học chỉ ra là: trong môi trường thử giải phóng, PLGA KLPT thấp sẽ bị thủy phân trước, tạo ra các sản phẩm thoái hoá có tính acid, làm giảm pH môi trường, giúp tăng tốc quá trình ăn mòn PLGA KLPT cao và do đó rút ngắn pha giải phóng chậm [25].

Giải pháp thứ hai: thêm vào thành phần công thức một số base ít tan như kẽm carbonat, magesi hydroxyd, magesi carbonat. Kẽm carbonat sẽ phản ứng với các sản phẩm có tính acid trong môi trường thử giải phóng, tạo thành muối tan và khí carbon dioxid, gây ra áp suất thẩm thấu, thúc đẩy sự hình thành lỗ xốp trong quá trình thoái hóa vi cầu, tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng liên tục dược chất [26].

Giải pháp thứ ba: thêm vào thành phần công thức một số tá dược tan trong nước như natri clorid, calci clorid, cyclodextrin. Các tá dược này có tác dụng làm tăng áp suất thẩm thấu, thúc đẩy sự hình thành lỗ xốp, tạo điều kiện thuận lợi để quá trình khuếch tán dược chất diễn ra liên tục [27].

Pha giải phóng nhanh được chứng minh là bắt đầu ngay khi quá trình trương nở vi cầu diễn ra. Trương nở vi cầu là kết quả của việc gia tăng liên tục áp lực thẩm thấu trong lòng vi cầu (do ngày càng có nhiều sản phẩm của quá trình thủy phân PLGA được tạo ra). Lúc này, các chuỗi PLGA đã bị ăn mòn đến khối lượng phân tử tới hạn nên không còn đủ sức để ngăn cản quá trình trương nở của vi cầu. Đồng thời, các pha giải phóng dược chất trước đó cũng đã tạo ra một hệ thống lỗ xốp dày đặc bên trong vi cầu. Sự xâm nhập liên tục của một lượng lớn nước qua hệ thống lỗ xốp vào sâu trong lõi vi cầu làm tăng tốc độ hoà tan và khuếch tán dược chất (vượt qua hạn chế về con đường khuếch tán dài do quá trình trương nở vi cầu gây ra), và do đó, làm tăng tốc độ giải phóng dược chất [28].

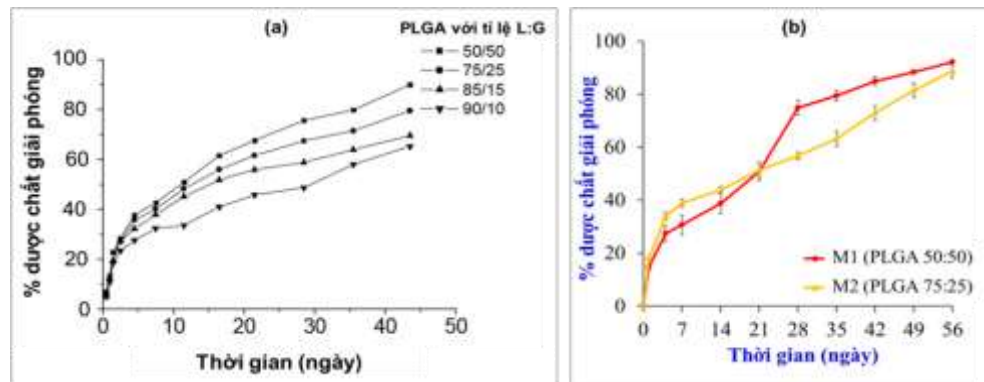
4. Một số yếu tố ảnh hưởng đến khả năng giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA

4.1. Loại PLGA

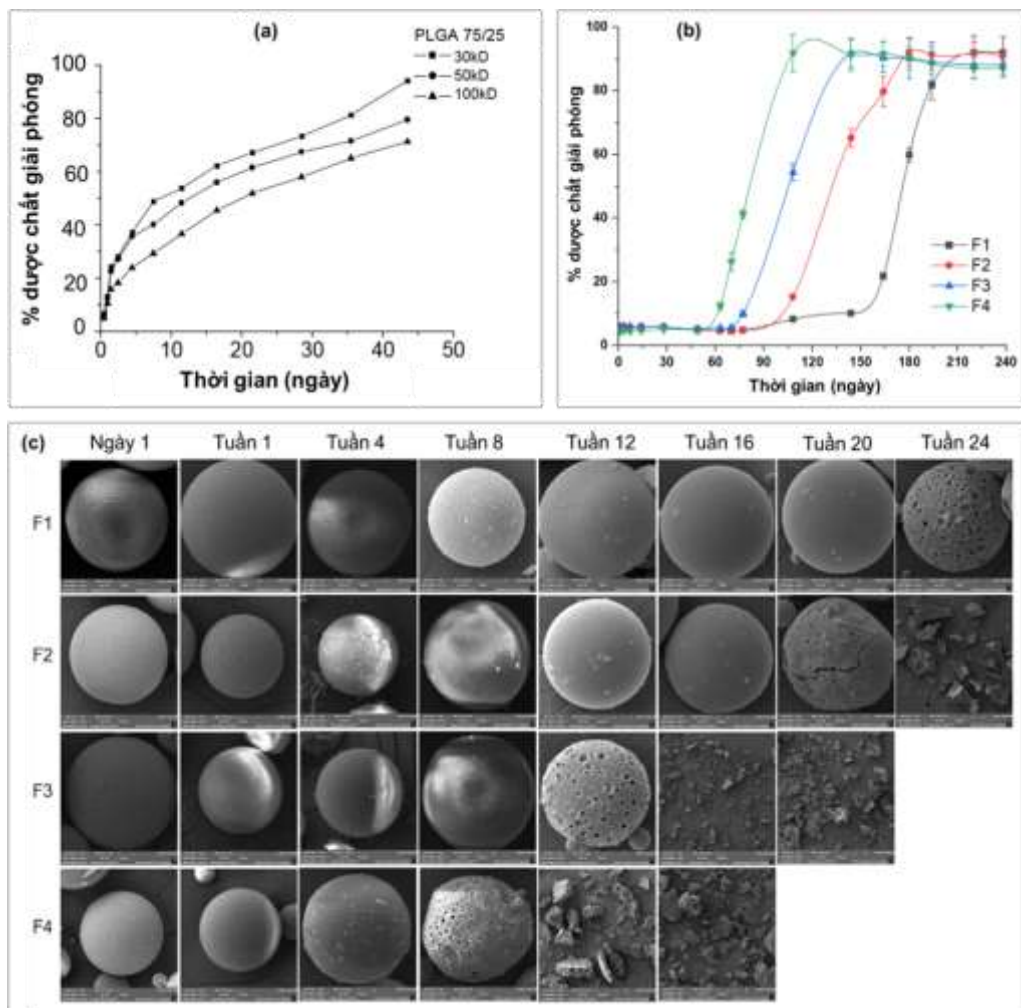
Do PLGA là tá dược kiểm soát giải phóng và chiếm tỉ lệ khối lượng lớn trong thành phần công thức nên việc sử dụng các loại PLGA khác nhau (tỉ lệ L:G, KLPT, nhóm chức tận cùng, nguồn nguyên liệu) sẽ tạo ra những thay đổi đáng kể trong đặc tính giải phóng kéo dài của hệ phân phối thuốc vi cầu.

4.1.1. Tỉ lệ L:G

Do được cấu thành từ acid lactic và acid glycolic nên PLGA sẽ kế thừa những đặc tính vốn có của hai đơn phân này. Trong tự nhiên, poly(glycolic acid) tồn tại ở dạng kết tinh, thân nước nhưng tan kém trong nước và bị thủy phân nhanh. Trong khi đó, poly(lactic acid) lại tương đối cứng, kỵ nước và có độ bền cơ học kém [30]. Do đó, polyme có tỉ lệ L:G khác nhau sẽ có đặc tính thân, kỵ nước khác nhau. Ví dụ: polyme PLGA (L:G=50:50) sẽ thân nước hơn polyme PLGA (L:G=75:25). Vì vậy, việc thay đổi tỉ lệ L:G sẽ có những ảnh hưởng nhất định đến khả năng kiểm soát giải phóng dược chất của hệ vi cầu PLGA. Cụ thể, Li và cộng sự (năm 2012) đã tiến hành bào chế vi cầu mang protein, sử dụng các PLGA có KLPT là 50 kDa nhưng tỉ lệ L:G thay đổi lần lượt là 50:50, 75:25, 85:15 và 90:10. Kết quả thử giải phóng *in vitro* cho thấy: khi tăng dần tỉ lệ acid lactic thì tốc độ giải phóng dược chất ra khỏi vi cầu PLGA giảm dần (Hình 4a) [29]. Ngoài ra, việc sử dụng PLGA với tỉ lệ L:G khác nhau cũng có thể tạo ra sự khác biệt về mô hình giải phóng dược chất của vi cầu. Theo nghiên cứu của Thong và cộng sự (năm 2023), khi tiến hành thử giải phóng *in vitro* ở nhiệt độ 37 °C, trong môi trường đệm phosphat salin pH 7,4, vi cầu mang dược chất thân nước sử dụng PLGA có tỉ lệ L:G=50:50 giải phóng theo mô hình ba pha (gồm pha giải phóng ồ ạt, pha giải phóng chậm và pha giải phóng nhanh), trong khi vi cầu mang dược chất thân nước sử dụng PLGA có tỉ lệ L:G=75:25 giải phóng theo mô hình hai pha (gồm pha giải phóng ồ ạt và pha giải phóng ổn định) (Hình 4b) [21].



Hình 4. Ảnh hưởng của tỉ lệ L:G đến đặc tính giải phóng dược chất của vi cầu PLGA: (a) Li và cộng sự (năm 2012), (b) Thong và cộng sự (năm 2023) [21, 29].



Hình 5. Ảnh hưởng của KLPT polyme đến kết quả thử giải phóng dược chất (a-b) và quá trình ăn mòn vi cầu PLGA (c). Kết quả được báo cáo trong nghiên cứu của a) Li và cộng sự (năm 2012); b) và c) Zhang và cộng sự (năm 2023) [18, 29].

4.1.2. Khối lượng phân tử polyme

So với PLGA KLPT nhỏ, PLGA KLPT lớn có mạch carbon dài hơn nên kỵ nước hơn. Dẫn đến, khi ở trong môi trường thử giải phóng, các vi cầu được bảo chế từ PLGA KLPT lớn sẽ ít thấm nước hơn và bị phân hủy chậm hơn các vi cầu được bảo chế từ PLGA KLPT nhỏ [21]. Điều này sẽ ảnh hưởng đáng kể đến khả năng giải phóng được chất của vi cầu PLGA. Chẳng hạn, Li và cộng sự (năm 2012) đã tiến hành bảo chế vi cầu mang protein, sử dụng các PLGA có cùng tỉ lệ L:G là 75:25 nhưng KLPT thay đổi lần lượt là 30 kDa, 50 kDa và 100 kDa. Kết quả thử giải phóng *in vitro* cho thấy khi tăng dần KLPT của PLGA thì tốc độ giải phóng được chất chậm dần (Hình 5a) [29].

Với mục tiêu điều chỉnh tốc độ ăn mòn vi cầu để từ đó đạt được tốc độ giải phóng được chất mong muốn, thực tế, trong quá trình bảo chế vi cầu, các loại PLGA với KLPT khác nhau có thể được phối hợp theo một tỉ lệ nhất định. Theo lý thuyết, PLGA KLPT nhỏ ít kỵ nước hơn PLGA KLPT lớn nên trong giai đoạn tạo nhũ tương, PLGA KLPT nhỏ có xu hướng tập trung ra phía ngoài của giọt dầu, còn PLGA KLPT lớn sẽ nằm ở phía bên trong. Dẫn đến, sau giai đoạn bốc hơi dung môi để rắn hoá vi cầu, các phân tử PLGA KLPT nhỏ sẽ tập trung ở phía trên bề mặt vi cầu [10]. Trong môi trường thử giải phóng, PLGA KLPT nhỏ bị thủy phân trước, làm xuất hiện sớm các lỗ xốp trên bề mặt vi cầu, giúp nước dễ dàng xâm nhập vào sâu bên trong mạng lưới polyme, từ đó tạo ra điều kiện thuận lợi cho quá trình thủy phân mạng lưới PLGA. Ngoài ra, sự phân hủy của PLGA KLPT nhỏ sẽ tạo ra các sản phẩm có tính acid, làm giảm pH môi trường, xúc tác cho quá trình cắt đứt liên kết este của chuỗi PLGA KLPT lớn. Kết quả là tỉ lệ PLGA KLPT nhỏ càng cao thì vi cầu bị ăn mòn càng nhanh và pha giải phóng chậm càng được rút ngắn [25]. Điều này đã được chứng minh trong nghiên cứu của Zhang và cộng sự (năm 2023) về vi cầu PLGA mang moxidectin. Sau khi tiến hành thử giải phóng 4 mẫu vi cầu F1, F2, F3, F4 có tỉ lệ PLGA 75 kDa và PLGA 23 kDa lần lượt là 1:0, 9:1, 2:1, 1:1, nhóm tác giả đã đưa ra kết luận: pha giải phóng chậm bị rút ngắn đáng kể khi tăng tỷ lệ PLGA có

KLPT thấp (cụ thể, pha giải phóng chậm của F1, F2, F3, F4 lần lượt kéo dài đến ngày 144, 108, 70, 49) (Hình 5b); đồng thời, sự xuất hiện của các lỗ xốp đầu tiên trên bề mặt vi cầu cũng trở nên sớm hơn khi tăng tỷ lệ PLGA có KLPT thấp (cụ thể, các lỗ xốp đầu tiên trên bề mặt vi cầu F1, F2, F3 và F4 lần lượt được quan sát vào tuần thứ 24, 16, 12 và 8 (Hình 5c) [18].

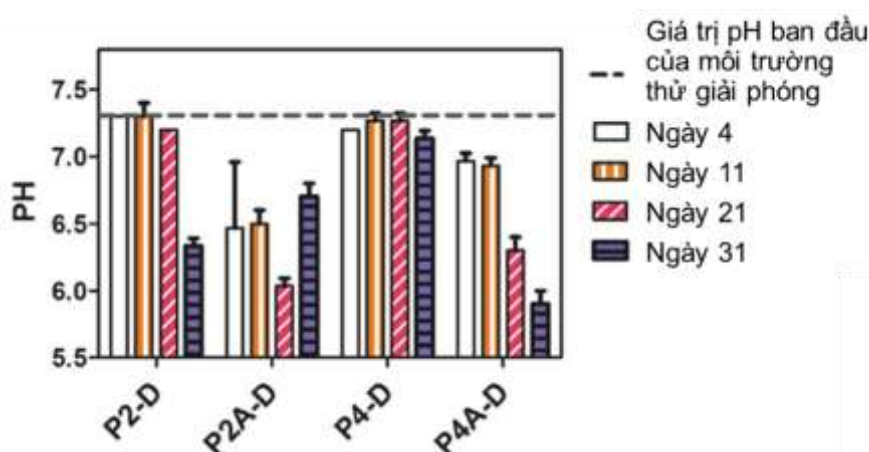
4.1.3. Nhóm chức tận cùng trong mạch polyme

Bản chất của nhóm chức tận cùng trong mạch polyme (acid hoặc este) có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng phân hủy sinh học của PLGA. Cụ thể: chuỗi PLGA mang nhóm chức acid tận cùng sẽ thân nước hơn nên phân hủy nhanh hơn chuỗi PLGA mang nhóm chức este tận cùng. Do đó, vi cầu chứa PLGA có nhóm acid tận cùng sẽ hấp thụ nước nhiều hơn và bị ăn mòn nhanh so với vi cầu chứa PLGA có nhóm este tận cùng [7]. Năm 2019, Wang và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu về vi cầu PLGA mang được chất doxycycline. Hình 6 là đồ thị biểu diễn pH môi trường thử giải phóng tại các thời điểm khác nhau của 4 mẫu: P2-D (PLGA 17 kDa, nhóm este tận cùng), P2A-D (PLGA 17 kDa, nhóm acid tận cùng), P4-D (PLGA 44 kDa, nhóm este tận cùng) và P4A-D (PLGA 44 kDa, nhóm acid tận cùng). Kết quả cho thấy: tại từng thời điểm lấy mẫu, giá trị pH của môi trường giải phóng khi thử vi cầu chứa PLGA mang nhóm chức acid tận cùng thấp hơn hẳn so với khi thử vi cầu chứa PLGA mang nhóm chức este tận cùng. Điều này chứng tỏ PLGA mang nhóm chức acid tận cùng bị thủy phân nhanh hơn, tạo ra nhiều oligome và monome có tính acid hơn so với PLGA mang nhóm chức este tận cùng [31].

Không phải bất cứ dược chất nào được đưa vào hệ vi cầu cũng đều tương tác với PLGA. Tuy nhiên, khi tương tác giữa dược chất và tá dược polyme xuất hiện, quá trình giải phóng được chất từ vi cầu PLGA sẽ có sự thay đổi. Tương tác dược chất - tá dược polyme hay gặp nhất trong vi cầu là tương tác ion giữa PLGA có nhóm acid tận cùng và dược chất thân nước có nhóm amin. Nghiên cứu của Klose D. và cộng sự (năm 2008) đã chỉ ra rằng: tương tác ion giữa nhóm carboxyl tận cùng trong phân tử PLGA với nhóm amin bậc

ba của lidocain làm tăng ái lực của dược chất với mạng lưới polyme, dẫn đến làm chậm quá trình khuếch tán dược chất từ trong lòng vi cầu ra ngoài môi trường giải phóng. Ngược lại, do không có tương tác ion giữa ibuprofen với PLGA nên tốc độ khuếch tán ibuprofen nhanh hơn lidocain [32]. Năm 2019, Andhariya và cộng sự đã đưa ra báo cáo về tương tác ion giữa phân tử leuprolid acetat mang nhóm amin tích điện

dương và phân tử PLGA mang nhóm carboxyl tích điện âm trong các mẫu vi cầu bào chế được. Tương tác ion này có thể làm giảm tốc độ giải phóng dược chất thông qua hàng loạt quá trình hấp phụ/giải hấp phụ trên bề mặt polyme đang bị phân hủy. Bất kỳ yếu tố nào làm thay đổi tương tác hóa lý giữa leuprolid acetat và PLGA cũng có thể ảnh hưởng lớn đến khả năng kiểm soát việc giải phóng dược chất của vi cầu PLGA [33].



Hình 6. Sự thay đổi pH môi trường thử giải phóng của 4 mẫu vi cầu được bào chế từ các loại PLGA khác nhau về nhóm chức tận cùng trong mạch polyme [31].

4.2. Kích thước vi cầu

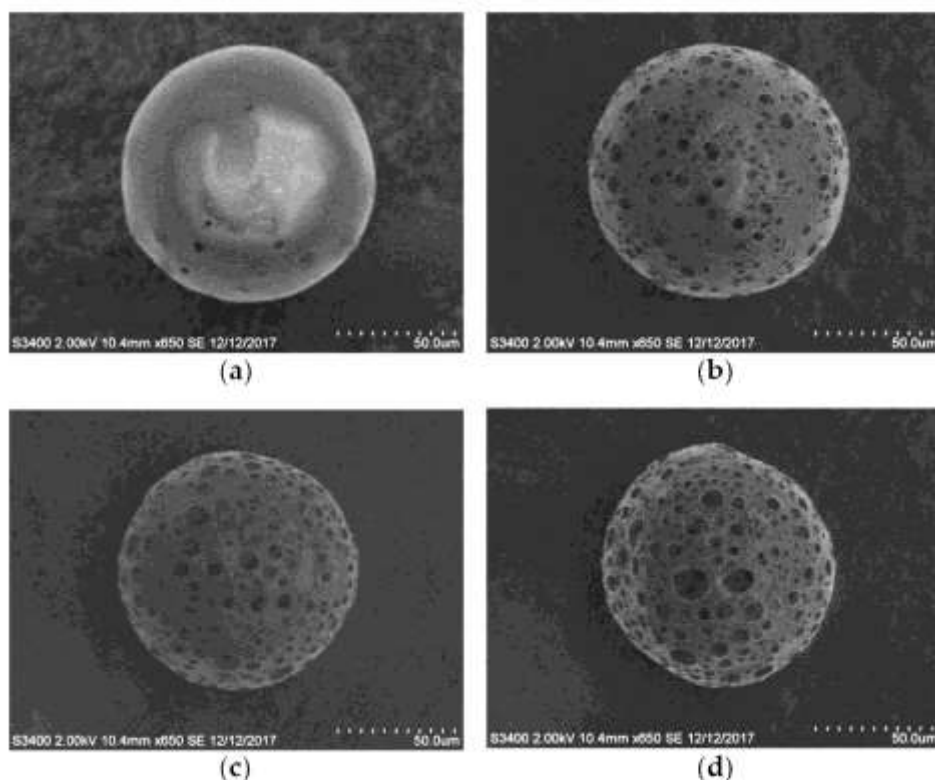
Kích thước vi cầu là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình giải phóng dược chất. Nghiên cứu của Chen và cộng sự (năm 2017) về vi cầu PLGA mang dược chất gefitinib đã kết luận rằng: kích thước vi cầu quyết định cơ chế giải phóng dược chất. Cụ thể, các vi cầu có kích thước nhỏ ($< 50 \mu\text{m}$) sẽ giải phóng dược chất theo cơ chế khuếch tán là chủ yếu; trong khi đó, các vi cầu có kích thước lớn ($\geq 50 \mu\text{m}$) giải phóng dược chất theo cơ chế khếch tán ở giai đoạn đầu và theo cơ chế ăn mòn ở giai đoạn muộn [20]. Nghiên cứu của Busatto và cộng sự (năm 2017) về vi cầu PLGA mang dược chất progesteron cũng đã chứng minh ảnh hưởng của kích thước vi cầu đến mô hình giải phóng dược chất. Trong đó, các vi cầu lớn (kích thước từ 50 đến $100 \mu\text{m}$) giải phóng theo mô hình 3 pha gồm pha giải phóng ồ ạt ban đầu (do giải phóng lượng lớn dược chất nằm trên bề mặt

vi cầu), pha giải phóng chậm (với cơ chế khếch tán qua mạng lưới polyme là chủ yếu) và pha giải phóng nhanh (do quá trình ăn mòn polyme). Còn các vi cầu nhỏ (kích thước dưới $50 \mu\text{m}$) giải phóng theo mô hình 2 pha gồm pha giải phóng ồ ạt ban đầu và pha giải phóng ổn định (dược chất khếch tán từ từ qua mạng lưới polyme) [34].

Trong quá trình bào chế, có thể điều chỉnh các thông số quy trình một cách phù hợp để tạo ra vi cầu có kích thước mong muốn, chẳng hạn như nồng độ polyvinyl alcol (PVA) trong pha nước ngoại. Khi bào chế vi cầu PLGA bằng phương pháp nhũ hóa kép kết hợp bốc hơi dung môi, PVA (chất diện hoạt không ion hóa) thường được thêm vào pha nước ngoại để tăng độ ổn định của nhũ tương kép nước/dầu/nước và ngăn sự kết tụ vi cầu [4]. Năm 2015, khi bào chế vi cầu PLGA mang albumin bằng phương pháp nhũ hóa kép kết hợp bốc hơi dung môi, Martin-Sabroso và cộng sự nhận thấy rằng: khi nồng độ PVA trong pha nước ngoại giảm từ 5% xuống

2% thì kích thước vi cầu tăng lên đáng kể, đồng thời các vi cầu cũng dễ kết tụ vào nhau hơn [35]. Tốc độ và thời gian nhũ hóa cũng là các thông số có thể điều chỉnh để làm thay đổi kích thước vi cầu. Liu và cộng sự (năm 2021) đã nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ nhũ hóa đến kích thước của vi cầu khi bào chế vi cầu PLGA mang protein bằng phương pháp nhũ hóa kép kết hợp bốc hơi dung môi. Kết quả cho thấy: khi tốc độ nhũ hóa giảm từ 3000 vòng/phút xuống 1000 vòng/phút thì

kích thước vi cầu PLGA tăng từ 0,3 – 0,5 μm lên 20 – 30 μm [36]. Kết quả tương tự cũng thu được từ nghiên cứu của Park và cộng sự (năm 2024). Cụ thể, khi tăng tốc độ nhũ hóa lần hai từ 6500 vòng/phút lên 17500 vòng/phút, kích thước vi cầu thu được giảm từ 13,25 μm xuống 3,65 μm . Ngoài ra, khi tăng thời gian nhũ hóa lần hai từ 0,5 phút lên 4 phút, kích thước vi cầu sau khi rắn hóa giảm từ 42,39 μm xuống 12,95 μm [37].



Hình 7. Ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét của các mẫu vi cầu có nồng độ amoni bicarbonat trong pha nước nội lần lượt là (a) 0%, (b) 1%, (c) 2%, (d) 4% [39].

4.3. Mật độ lỗ xốp

Sự có mặt của hệ thống lỗ xốp sẽ làm tăng diện tích tiếp xúc của vi cầu với môi trường thử giải phóng, đồng thời tạo ra các kênh dẫn nước giúp nước từ môi trường giải phóng dễ dàng xâm nhập vào sâu trong lòng vi cầu, từ đó đẩy nhanh quá trình khuếch tán dược chất và làm tăng tốc độ thủy phân mạng lưới PLGA. Nhờ vậy mà quá trình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA có thể

diễn ra một cách thuận lợi [24]. Trong các nghiên cứu gần đây, phương pháp phổ biến nhất để tăng mật độ lỗ xốp của vi cầu PLGA là thêm amoni bicarbonat vào thành phần pha nước nội. Trong quá trình bào chế, ở giai đoạn tạo nhũ tương, amoni bicarbonat sẽ dễ dàng bị phân hủy thành khí amoniac và khí carbonic dưới tác dụng của lực cắt từ thiết bị đồng nhất hóa. Các bọt khí này sau đó sẽ được bao gói vào trong các giọt dầu. Đến giai đoạn rắn hóa vi cầu, các bọt khí này sẽ

bốc hơi cùng dung môi hữu cơ, tạo ra hệ thống lỗ xốp dày đặc ở trên bề mặt và trong lòng vi cầu [38, 39]. Nghiên cứu của Kim và cộng sự (năm 2020) về vi cầu PLGA mang donepezil hydroclorid đã chứng minh vai trò của amoni bicarbonat đến độ xốp của vi cầu. Cụ thể, khi không thêm amoni bicarbonat vào pha nước nội, bề mặt vi cầu tương đối trơn nhẵn (Hình 7a) và độ xốp của vi cầu chỉ đạt 8,93%. Khi nồng độ amoni bicarbonat trong pha nước nội tăng dần từ 1% đến 4%, số lượng và kích thước lỗ xốp trên bề mặt vi cầu ngày càng lớn (Hình 7b-d), đồng thời độ xốp của vi cầu cũng tăng từ 29,9% lên 63,4% [39].

5. Kết luận

Vi cầu PLGA đang ngày càng ứng dụng rộng rãi trong phát triển hệ mang thuốc vì khả năng phân hủy sinh học và giúp giải phóng dược chất kéo dài từ nhiều tuần đến nhiều tháng. Quá trình giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA có thể tuân theo mô hình hai pha hoặc mô hình ba pha. Trong các cơ chế giải phóng dược chất từ vi cầu thì cơ chế khuếch tán và ăn mòn đóng vai trò quan trọng nhất. Loại PLGA (tỉ lệ L:G, KLPT, nhóm chức tận cùng trong mạch polyme), kích thước vi cầu, mật độ lỗ xốp vi cầu có ảnh hưởng nhất định đến thời gian và tốc độ giải phóng dược chất từ vi cầu PLGA. Tuy nhiên, các yếu tố này hoàn toàn có thể kiểm soát được trong quá trình bào chế vi cầu. Nghiên cứu tổng quan này góp phần phân tích các yếu tố trọng yếu ảnh hưởng đến khả năng kiểm soát giải phóng của vi cầu PLGA; làm cơ sở để thiết kế các vi cầu giải phóng kéo dài; hướng đến bào chế được các vi cầu có thời gian giải phóng phù hợp và đáp ứng được yêu cầu điều trị.

Lời cảm ơn

Ngô Giao Thông được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2024.ThS.73.

Tuyên bố về lợi ích xung đột

Các tác giả tuyên bố rằng không có xung đột lợi ích.

Tài liệu tham khảo

- [1] X. Guo et al., PLGA-based Micro/nanoparticles: an Overview of Their Applications in Respiratory Diseases, *Int J Mol Sci*, Vol. 24, No. 5, 2023, pp. 4333, <https://doi.org/10.3390/ijms24054333>.
- [2] O. D. Frent et al., Preparation and Characterization of Chitosan-alginate Microspheres Loaded with Quercetin, *Polymers (Basel)*, Vol. 14, No. 3, 2022, p. 490, <https://doi.org/10.3390/polym14030490>.
- [3] A. R. Cho et al., Preparation of Alginate-CaCl₂ Microspheres as Resveratrol Carriers, *Journal of Materials Science*, Vol. 49, No. 13, 2014, pp. 4612-4619, <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8163-x>.
- [4] N. G. Thong et al., Effect of Processing Parameters on Characteristics of Biodegradable Extended-release Microspheres Containing Leuprolide Acetate, *Drug Dev Ind Pharm*, Vol. 50, No. 12, 2024, pp. 981-994, <https://doi.org/10.1080/03639045.2024.2433621>.
- [5] N. T. Lam et al., Investigation of Lyophilized Microspheres Loaded with Leuprolide Acetate, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 39, No. 1, 2023, <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4487>.
- [6] J. Wu et al., Control of Silk Microsphere Formation Using Polyethylene Glycol (PEG), *Acta Biomater*, Vol. 39, 2016, pp. 156-168, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.05.019>.
- [7] H. K. Makadia, S. J. Siegel, Poly Lactic-co-glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, *Polymers (Basel)*, Vol. 3, No. 3, 2011, pp. 1377-1397, <https://doi.org/10.3390/polym3031377>.
- [8] K. Park et al., Injectable, Long-acting PLGA Formulations: Analyzing PLGA and Understanding Microparticle Formation, *Journal of Controlled Release*, Vol. 304, 2019, pp. 125-134, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.003>.
- [9] A. Butreddy et al., PLGA/PLA-based Long-acting Injectable Depot Microspheres in Clinical Use: Production and Characterization Overview for Protein/Peptide Delivery, *Int J Mol Sci*, Vol. 22, No. 16, 2021, <https://doi.org/10.3390/ijms22168884>.

- [10] M. Ochi et al., Influence of PLGA Molecular Weight Distribution on Leuprolide Release from Microspheres, *Int J Pharm*, Vol. 599, 2021, pp. 120450, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120450>.
- [11] G. Liu, K. McEnnis, Glass Transition Temperature of Plga Particles and the Influence on Drug Delivery Applications, *Polymers (Basel)*, Vol. 14, No. 5, 2022, <https://doi.org/10.3390/polym14050993>.
- [12] J. M. Dodda et al., Progress in the Drug Encapsulation of Poly(lactic-co-glycolic acid) and Folate-decorated Poly(ethylene glycol)-poly(lactic-co-glycolic acid) Conjugates for Selective Cancer Treatment, *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 10, No. 22, 2022, pp. 4127-4141, <https://doi.org/10.1039/D2TB00469K>.
- [13] F. Danhier et al., PLGA-based Nanoparticles: an Overview of Biomedical Applications, *Journal of Controlled Release*, Vol. 161, No. 2, 2012, pp. 505-522, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043>.
- [14] R. Ismail et al., Encapsulation in Polymeric Nanoparticles Enhances the Enzymatic Stability and the Permeability of the GLP-1 Analog, Liraglutide, Across A Culture Model of Intestinal Permeability, *Pharmaceutics*, Vol. 11, No. 11, 2019, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110599>.
- [15] Y. Hao et al., SN-38-loaded PLGA Microspheres Injected Intratumorally for Cancer: Preparation, Characterization and Evaluation, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 53, 2019, pp. 101178, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101178>.
- [16] S. Fredenberg et al., The Mechanisms of Drug Release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based Drug Delivery Systems--A Review, *Int J Pharm*, Vol. 415, No. 1-2, 2011, pp. 34-52, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.049>.
- [17] T. Wang et al., Pore Change During Degradation of Octreotide Acetate-loaded PLGA Microspheres: The Effect of Polymer Blends, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 138, 2019, pp. 104990, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.104990>.
- [18] H. Zhang et al., The Effect of Polymer Blends on the in Vitro Release/Degradation and Pharmacokinetics of Moxidectin-loaded Plga Microspheres, *Int J Mol Sci*, Vol. 24, No. 19, 2023, pp. 14729, <https://doi.org/10.3390/ijms241914729>.
- [19] S. Fredenberg et al., Pore Formation and Pore Closure in Poly(D,L-lactide-co-glycolide) Films, *Journal of Controlled Release*, Vol. 150, No. 2, 2011, pp. 142-149, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.11.020>.
- [20] W. Chen et al., Effect of Particle Size on Drug Loading and Release Kinetics of Gefitinib-loaded PLGA Microspheres, *Mol Pharm*, Vol. 14, No. 2, 2017, pp. 459-467, <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00896>.
- [21] N. G. Thong et al., Investigation on Modeling and Correlating Drug Release Profiles in the Accelerated and Real-time Conditions to Formulate Leuprolide Acetate-Loaded Biodegradable Microspheres, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 86, 2023, pp. 104529, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104529>.
- [22] J. Wang et al., Characterization of the Initial Burst Release of A Model Peptide from Poly(D,L-lactide-co-glycolide) Microspheres, *Journal of Controlled Release*, Vol. 82, No. 2-3, 2002, pp. 289-307, [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00137-2](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00137-2).
- [23] C. Zheng, W. Liang, A one-step Modified Method to Reduce the Burst Initial Release from PLGA Microspheres, *Drug Delivery*, Vol. 17, No. 2, 2010, pp. 77-82, <https://doi.org/10.3109/10717540903509001>.
- [24] D. Klose et al., How Porosity and Size Affect the Drug Release Mechanisms from PLGA-based Microparticles, *Int J Pharm*, Vol. 314, No. 2, 2006, pp. 198-206, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.07.031>.
- [25] B. Gu et al., In vitro and in vivo Performance of Dexamethasone Loaded PLGA Microspheres Prepared Using Polymer Blends, *Int J Pharm*, Vol. 496, No. 2, 2015, pp. 534-540, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.056>.
- [26] K. Hirota et al., Characterizing Release Mechanisms of Leuprolide Acetate-loaded PLGA Microspheres for IVIVC Development I: In Vitro Evaluation, *Journal of Controlled Release*, Vol. 244, No. Pt B, 2016, pp. 302-313, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.08.023>.
- [27] M. Nasr et al., Hydrophilic Versus Hydrophobic Porogens for Engineering of Poly(Lactide-Co-Glycolide) Microparticles Containing Risedronate Sodium, *Pharm Dev Technol*, Vol. 18, No. 5, 2013, pp. 1078-88, <https://doi.org/10.3109/10837450.2012.693507>.
- [28] H. Gasmi et al., Towards a Better Understanding of the Different Release Phases from PLGA Microparticles: Dexamethasone-loaded Systems, *Int J Pharm*, Vol. 514, No. 1, 2016, pp. 189-199, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.08.032>.

- [29] Z. H. Li et al., Effect of the Lactide/Glycolide Ratio and Molecular Weight of PLGA on the Bovine BMPs Microspheres Systems, *Advanced Materials Research*, Vol. 466-467, 2012, pp. 405-410, <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.466-467.405>.
- [30] Sonam et al., Effect of Physicochemical Properties of Biodegradable Polymers on Nano Drug Delivery, *Polymer Reviews*, Vol. 53, No. 4, 2013, pp. 546-567, <https://doi.org/10.1080/15583724.2013.828751>.
- [31] J. Wang et al., Encapsulation and Release of Doxycycline from Electrospray-Generated PLGA Microspheres: Effect of Polymer end Groups, *Int J Pharm*, Vol. 564, 2019, pp. 1-9, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.04.023>.
- [32] D. Klose et al., PLGA-based Drug Delivery Systems: Importance of the Type of Drug and Device Geometry, *Int J Pharm*, Vol. 354, No. 1-2, 2008, pp. 95-103, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.10.030>.
- [33] J. V. Andhariya et al., Development of Level A in Vitro-In Vivo Correlations for Peptide Loaded PLGA microspheres, *Journal of Controlled Release*, Vol. 308, 2019, pp. 1-13, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.013>.
- [34] C. Busatto et al., Effect of Particle Size, Polydispersity and Polymer Degradation on Progesterone Release from PLGA Microparticles: Experimental and Mathematical Modeling, *Int J Pharm*, Vol. 536, No. 1, 2018, pp. 360-369, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.006>.
- [35] C. Martin-Sabroso et al., Critical Attributes of Formulation and of Elaboration Process of PLGA-protein Microparticles, *Int J Pharm*, Vol. 480, No. 1-2, 2015, pp. 27-36, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.01.008>.
- [36] S. Liu et al., Anisotropic PLGA Microsphere/PVA Hydrogel Composite with Aligned Macroporous Structures for Directed Cell Adhesion and Proliferation, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, Vol. 72, 2021, pp. 1-10, <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.2018317>.
- [37] H. Park, Exploring the Effects of Process Parameters During W/O/W Emulsion Preparation and Supercritical Fluid Extraction on the Protein Encapsulation and Release Properties of PLGA Microspheres, *Pharmaceutics*, Vol. 16, No. 3, 2024, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030302>.
- [38] T. K. Kim et al., Gas Foamed Open Porous Biodegradable Polymeric Microspheres, *Biomaterials*, Vol. 27, No. 2, 2006, pp. 152-159, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.081>.
- [39] D. Kim et al., PLGA Microspheres with Alginate-coated Large Pores for the Formulation of An Injectable Depot of Donepezil Hydrochloride, Vol. 12, No. 4, 2020, pp. 311, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040311>.