

Ảnh hưởng của nồng độ Poly(D,L-lactide) và các thông số gia công lên hình thái vi hạt electrospray

Nguyễn Vũ Việt Linh^{1*}, Tiêu Tử Doanh², Nguyễn Thị Thanh Hiền³, Phạm Minh Cảnh⁴, Huỳnh Đại Phú^{1,4}

¹Phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia về vật liệu polymer và composit, Trường Đại học Bách khoa TP Hồ Chí Minh

²Phòng thí nghiệm công nghệ nano, Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh

³Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP Hồ Chí Minh

⁴Khoa Công nghệ vật liệu, Trường Đại học Bách khoa TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 25/9/2017; ngày chuyển phản biện 27/9/2017; ngày nhận phản biện 25/10/2017; ngày chấp nhận đăng 30/10/2017

Tóm tắt:

Điều khiển quá trình giải phóng thuốc thông qua sự điều khiển hình thái và cấu trúc của vật liệu mang thuốc là vấn đề đang được các nhà nghiên cứu quan tâm, bởi sự giảm các tác dụng phụ của thuốc và nâng cao hiệu quả điều trị. Một trong các phương pháp hữu dụng chế tạo các hạt mang thuốc là electrospray nhờ các ưu điểm của nó như khả năng mang thuốc cao, dễ chế tạo, và phân hủy sinh học. Nghiên cứu này tập trung vào ảnh hưởng của nồng độ Poly(D,L-lactide) acid (PLA) trong dung môi chloroform và các thông số gia công như điện thế áp vào, khoảng cách thu mẫu đến hình thái vi hạt. PLA được sử dụng để chế tạo vi hạt bằng phương pháp electrospray bởi sự tương thích sinh học và khả năng phân hủy sinh học của nó. Hình thái của vi hạt sẽ được quan sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (SEM). Có thể điều khiển được hình thái của hạt và độ đồng nhất về hình thái bằng cách điều chỉnh nồng độ polyme (4,5%, 5% và 5,5% PLA), điện thế (18 kV và 24 kV) và khoảng cách thu mẫu (15 cm, 20 cm và 25 cm). Thông số tối ưu trong nghiên cứu này để tạo vi hạt hình cầu đồng nhất, ổn định là 5% PLA, 24 kV, 20 cm. Tuy nhiên, vi hạt vẫn có bề mặt nhẵn do sử dụng chloroform có tốc độ bay hơi cao.

Từ khóa: Electrospray, hình thái, Poly (D,L- lactide), SEM, vi hạt.

Chỉ số phân loại: 2.5

Giới thiệu

Trong vài thập kỷ qua, các nhà khoa học đã tiến hành nghiên cứu và chế tạo các hệ vật liệu mang thuốc và dẫn thuốc để nâng cao hiệu quả điều trị và tránh các tác dụng phụ của thuốc, đặc biệt là đối với bệnh tiểu đường và ung thư. Bên cạnh các vật liệu mang thuốc như hydrogel, mixel, màng đa lớp..., phương pháp electrospray đã được sử dụng để chế tạo các vi hạt polyme ứng dụng trong dược phẩm và y học. Vi hạt electrospray chứa thuốc sẽ đi vào cơ thể người qua đường uống, tiêm hoặc hít [1, 2]. Quá trình giải phóng thuốc ra khỏi các vi hạt này thông qua quá trình ăn mòn dần nền polyme bởi môi trường sinh học trong cơ thể, quá trình này xảy ra bởi sự phân hủy liên kết ester của Polylactide acid [3]. Như vậy, điều khiển được hình thái và kích thước vi hạt sẽ giúp điều khiển được quá trình giải phóng thuốc ra khỏi vi hạt polyme [4, 5]. Hình thái hạt electrospray bị ảnh hưởng bởi các thông số như bản chất polyme (loại polyme, khối lượng phân tử), dung môi (tốc độ bay hơi, sức căng bề mặt và độ dẫn điện), nồng độ polyme trong dung dịch và lưu lượng phun [1, 6-9]. Sự ổn định về hình thái của hạt electrospray chỉ đạt được khi thực hiện ở chế độ phun

cone-jet [10]. Ở nồng độ polyme thấp, vi hạt có hình dạng màng, đĩa hoặc bán cầu, tăng nồng độ thì tạo được hạt cầu, tuy nhiên khi nồng độ cao, vượt giá trị tới hạn của chuỗi rối polyme trong giọt electrospray thì dẫn đến hình thành các hạt dính sợi, thậm chí sợi nếu nồng độ đủ lớn [7, 11-13]. Trọng lượng phân tử lớn có thể tạo được hạt cầu mặc dù ở nồng độ thấp do số lượng chuỗi rối tạo ra nhiều nhờ vào mạch polyme dài [7]. Trong một nghiên cứu khác của nhóm tác giả, loại polyme và khối lượng phân tử khác nhau của PLA tạo ra các hình thái và kích thước vi hạt khác nhau mặc dù sử dụng cùng nồng độ polyme [14].

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của nồng độ PLA trong chloroform, các thông số gia công như điện thế và khoảng cách thu mẫu lên hình thái vi hạt chế tạo bằng phương pháp electrospray sẽ được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua. Hình thái và kích thước của vi hạt PLA được điều khiển bằng cách điều chỉnh các thông số chế tạo hạt. Nghiên cứu tiếp theo sẽ khảo sát ảnh hưởng của hình thái và kích thước hạt lên quá trình giải phóng của thuốc trên mô hình invitro.

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenvvietlinh@hcmut.edu.vn

Influence of Poly(D,L-lactide) and processing parameters on morphology of electrosprayed microparticles

Vu Viet Linh Nguyen^{1*}, Tu Doanh Tieu², Thi Thanh Hien Nguyen³, Minh Canh Pham⁴, Dai Phu Huynh^{1,4}

¹National Key Laboratory of Polymer and Composite Materials, Ho Chi Minh City University of Technology

²Nanotechnology Laboratory, Saigon Hi-tech Park

³Ho Chi Minh City University of Food Industry

⁴Faculty of Materials Technology, Ho Chi Minh City University of Technology

Received 25 September 2017; accepted 30 October 2017

Abstract:

Controlling the release of drug by controlling the morphology and structure of drug loaded microparticles has attracted attention from researchers due to its benefits of reducing the side effects of drugs and improving effectively the treatment. The electrospray is the useful method to fabricate drug loaded microparticles because of its advantages such as high drug loaded capacity of microparticles, easy manufacture, and biodegradability. This study focused on the effects of the Poly(D,L-lactide) acid (PLA) concentration in chloroform solvent and processing parameters such as applied voltage, collecting distance on the microparticles morphology. PLA was used to fabricate microparticles by the electrospray method because of its biocompatibility and biodegradability. Morphology of the particles was observed by the Transmission Electron Microscopy (SEM). The morphology of the particles and the uniformity of the morphology were able to control by adjusting the polymer concentrations (4.4, 5, and 5.5% PLA), voltages (18 kV and 24 kV) and collecting distances (15 cm, 20 cm, and 25 cm). In this study, the optimal parameters which created the uniform and stable spherical particles were 5% PLA, 24 kV, and 20 cm. However, the particles surface was still wrinkle due to using chloroform which has a high evaporation rate.

Keywords: Electrospray, microparticle, morphology, Polylactide acid, SEM.

Classification number: 2.5

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

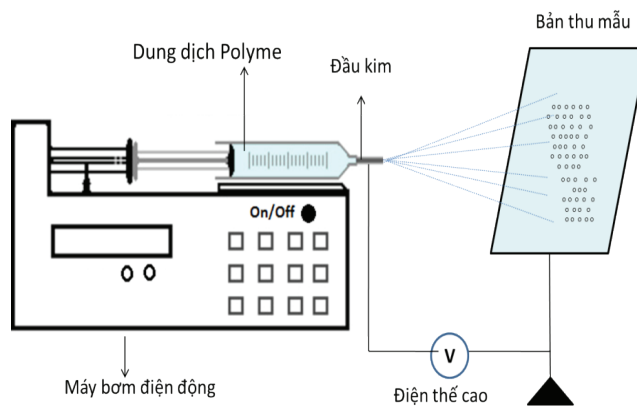
Nguyên liệu

Poly (D,L-lactide) acid (PLA) của hãng Sigma aldrich - Mỹ, trọng lượng phân tử $M_w = 75.000-120.000$ mol/g. Dung môi chloroform của Prolabo - Pháp, độ tinh khiết 99,8% và nhiệt độ sôi 61°C.

Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị dung dịch phun PLA: Đầu tiên PLA được hòa tan trong dung môi chloroform với nồng độ polyme lần lượt là 4,5%, 5% và 5,5% (khối lượng/khối lượng) bằng máy khuấy từ trong 2-2,5 h ở nhiệt độ phòng. Sau đó để dung dịch PLA ổn định trong 20-30 phút nhằm loại bỏ hoàn toàn các bọt khí trong dung dịch.

Chế tạo vi hạt electrospray PLA: Cho dung dịch PLA vào xylanh 25 ml, có gắn kim tiêm loại 20G (đường kính trong của kim là 0,603 mm) vào đầu xylanh. Kim tiêm cần được cắt và mài nhẵn ở đầu kim. Tiếp tục lắp xylanh vào hệ thống bơm Micropump Top-5300 (Nhật Bản), có thể điều chỉnh được lưu lượng phun từ 0,1 ml/h đến 100 ml/h. Áp điện thế cao gồm 18 kV và 24 kV vào đầu kim và bản thu mẫu như hình 1. Bản cực thu mẫu là tấm kim loại có phủ một lớp nhôm mỏng. Dưới tác dụng của điện trường, các giọt dung dịch polyme mang điện sẽ di chuyển từ đầu kim đến bản thu mẫu tạo thành các vi hạt PLA. Mẫu sau khi phun sẽ được để ở nhiệt độ phòng trong 48 h cho dung môi bay hơi hoàn toàn.



Hình 1. Hệ thống electrospray chế tạo vi hạt PLA [14].

Phương pháp đánh giá hình thái và kích thước của vi hạt electrospray: Hình thái của vi hạt được quan sát và ghi lại bởi kính hiển vi điện từ quét (Scanning Electron Microscopy - SEM) Hitachi S-4800, Nhật Bản tại Phòng thí nghiệm công nghệ nano, Trung tâm Nghiên cứu và phát triển, Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh. Các mẫu trước khi chụp SEM đã được phủ một lớp Platin. Điện thế gia tốc

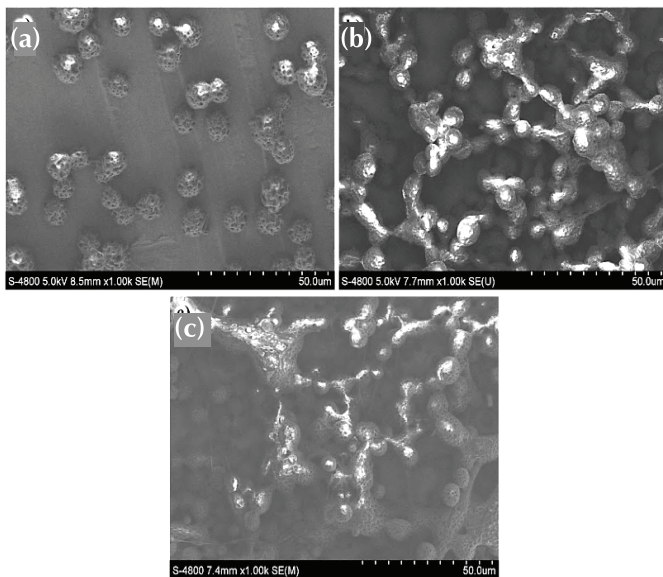
trong quá trình quét là 5 kV.

Kích thước hạt PLA được đo bằng phần mềm ImageJ trên ảnh SEM và độ phân bố kích thước hạt được tính toán bằng phần mềm Minitab.

Kết quả

Ảnh hưởng của nồng độ PLA lên hình thái vi hạt

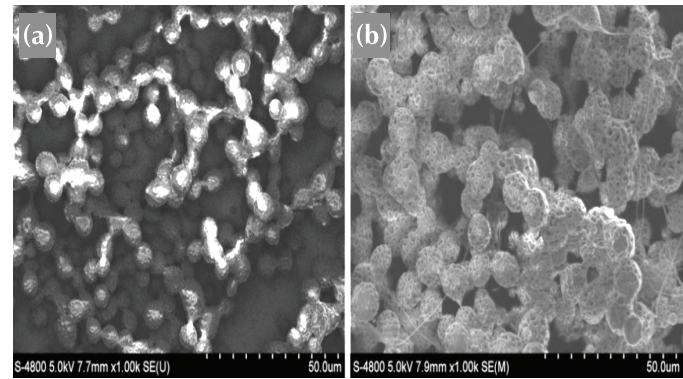
PLA được pha trong dung môi chloroform ở 3 nồng độ % PLA là 4,5%, 5% và 5,5% (khối lượng/khối lượng). Thông số chế tạo hạt của máy được thiết lập cố định như sau: Điện thế phun: 18 kV, khoảng cách từ đầu kim đến bản thu mẫu: 15 cm, lưu lượng phun là 1 ml/h khi tiến hành khảo sát với các % PLA khác nhau. Sản phẩm hạt thu được được đánh giá qua ảnh SEM.



Hình 2. Ảnh SEM của vi hạt PLA ở các nồng độ khác nhau: (a) 4,5%, (b) 5% và (c) 5,5% (18 kV, 15 cm, 1 ml/h, 20G).

Ảnh hưởng của điện thế áp vào lên hình thái vi hạt PLA

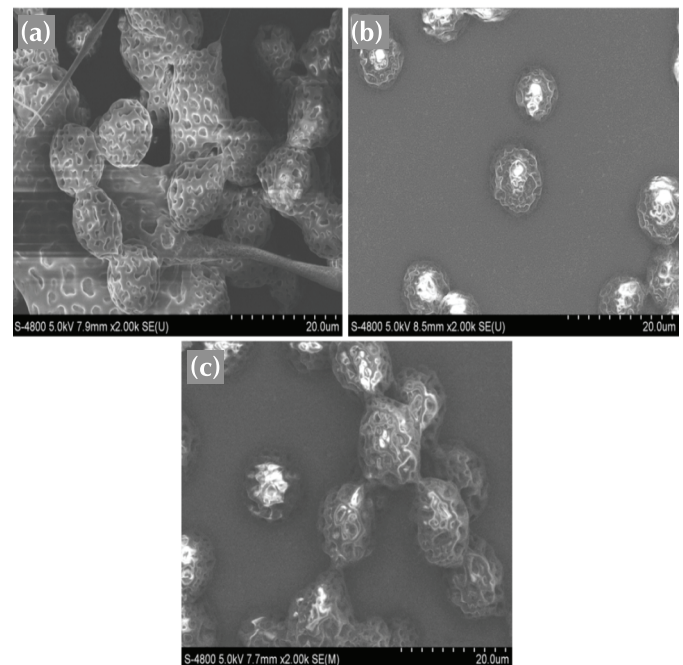
Sau khi chọn lựa nồng độ PLA phù hợp để tạo hình thái hạt vi cầu, tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của điện thế áp vào hệ lên hình thái và kích thước hạt vi cầu. Thông số chế tạo được thiết lập bao gồm 5% PLA, khoảng cách từ đầu kim đến bản thu mẫu: 15 cm, lưu lượng phun là 1 ml/h, điện thế được khảo sát ở 2 giá trị là 18 kV và 24 kV. Hình 3 là kết quả ảnh SEM ở 18 kV (3a) và 24 kV (3b).



Hình 3. Ảnh SEM của vi hạt PLA ở điện thế khác nhau: (a) 18 kV và (b) 24 kV (5% PLA, 15 cm, 1 ml/h, 20G).

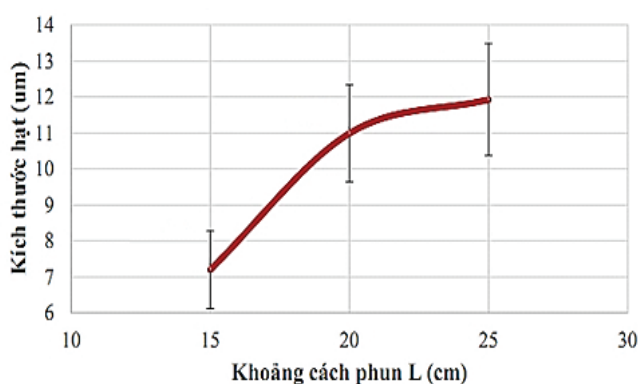
Ảnh hưởng của khoảng cách thu mẫu lên hình thái và kích thước vi hạt

Hình 4 là ảnh SEM của các vi hạt PLA chế tạo bằng phương pháp electrospray ở các thông số sau: Điện thế 18 kV, 5% PLA, lưu lượng phun là 1 ml/h, khoảng cách từ đầu kim đến bản thu mẫu: 15 cm (4a), 20 cm (4b) và 25 cm (4c).



Hình 4. Ảnh SEM của vi hạt PLA ở các khoảng cách khác nhau: (a) 15 cm, (b) 20 cm và (c) 25 cm (5% PLA, 24 kV, 1 ml/h, 20G).

Sau đó ảnh SEM được sử dụng để tính kích thước hạt PLA, hình 5 là biểu đồ thể hiện sự ảnh hưởng của khoảng cách phun lên kích thước hạt PLA.



Hình 5. Ảnh hưởng của khoảng cách phun lên kích thước hạt electro spray PLA (5% PLA, 24 kV, 1 ml/h, 20G).

Bàn luận

Ở nồng độ PLA thấp 4,5%, hạt có hình thái cầu, tuy nhiên có nhiều lỗ rỗng, khuyết do thiếu polyme (hình 2a). Tăng nồng độ PLA lên 5%, thì hạt cầu đã mất đi các phần rỗng và khuyết; tiếp tục tăng PLA lên 5,5%, các hạt dính sợi và các hạt thuôn dài xuất hiện (hình 2b và 2c). Nguyên nhân là do khi tăng nồng độ polyme, số lượng chuỗi rối trong giọt electro spray tăng lên và nhờ vậy hạt PLA không còn bị rỗng và khuyết (5% PLA), nhưng khi chuỗi rối hình thành quá nhiều sẽ tạo hạt thuôn dài (5,5% PLA). Hình thái hạt ở tất cả các nồng độ PLA đều nhẵn nhéo là do sử dụng dung môi chloroform có tốc độ bay hơi cao làm cho bề mặt của giọt electro spray khi bay đến bản thu hóa cứng, trong khi đó bên trong hạt cầu vẫn còn dung môi. Sau một thời gian, dung môi bên trong hạt PLA di chuyển ra ngoài môi trường, đồng thời có sự khuếch tán của các mạch polyme bên trong vi hạt, dẫn đến bề mặt hạt bị nhẵn nhéo. Như vậy, 5% PLA tạo được hạt cầu, nên nồng độ này được dùng để nghiên cứu những ảnh hưởng của thông số gia công lên hình thái vi hạt PLA.

Trong hình 3, vi hạt có hình thái cầu ở nồng độ 5% PLA trong dung môi chloroform, lưu lượng phun là 1 ml/h, khoảng cách từ đầu kim đến bản thu là 15 cm ở cả 2 mức điện thế là 18 kV và 24 kV. Tuy nhiên ở điện thế 18 kV, các vi hạt chưa tách rời hoàn toàn mà bị dính vào nhau (hình 3a), nguyên nhân là do mức điện thế 18 kV không tạo ra lực điện trường đủ mạnh, trong trường hợp này là lực đẩy Culong, để tách giọt electro spray thành các vi hạt trong quá trình chúng bay từ đầu phun đến bản thu mẫu. Ở điện thế 24 kV, các vi hạt PLA đã tách rời nhau nhưng lại xuất hiện các sợi tơ mỏng giữa các hạt (hình 3b). Hiện tượng này được giải thích là do trong quá trình giọt electro spray bay từ đầu kim đến bản thu, xảy ra 2 quá trình là lực đẩy Culong tách giọt electro spray thành các giọt sơ cấp rồi đến vi hạt, và lực hút điện trường phát sinh giữa đầu kim tích điện dương và bản

thu tích điện âm, có một sợi tơ mỏng hình thành giữa các hạt sau khi chúng bị chia tách. Ngay tại thời điểm sợi tơ hình thành, dung môi bay hơi hoàn toàn sẽ làm hóa cứng sợi tơ.

Khi khoảng cách từ đầu kim đến bản thu mẫu (khoảng cách thu mẫu) gần (15 cm), các hạt PLA bị dính vào nhau và biến dạng, nguyên nhân là do dung môi vẫn còn trong các vi hạt nên khi bay đến va vào bản thu, các hạt bị thay đổi hình dạng và bết dính vào nhau. Bên cạnh đó, trong quá trình chia tách bởi lực Culong và bay đến bản thu, khoảng cách gần làm cho hạt không đủ thời gian chia tách đã bay đến bản thu (hình 4a). Tăng khoảng cách thu mẫu lên 20 cm, các vi hạt PLA đủ thời gian để chia tách nên kết quả trên ảnh SEM là các hạt rời rạc (hình 4b). Tuy nhiên, khi khoảng cách thu là 25 cm, các vi hạt lại bị dính vào nhau (hình 4c). Hiện tượng này là do khoảng cách giữa đầu phun và bản thu tăng, làm giảm lực điện trường và lực đẩy Culong không đủ mạnh để tách rời hoàn toàn các vi hạt.

Kết quả cho thấy, kích thước hạt và độ lệch chuẩn tăng dần khi khoảng cách phun tăng dần (hình 5). Ở khoảng cách 15 cm, kích thước hạt trung bình là 7,2 μm và độ lệch chuẩn StDev = 1,082. Tăng khoảng cách lên 20 cm, kích thước hạt trung bình 10,99 μm và có độ lệch chuẩn StDev = 1,352. Ở 25 cm, kích thước hạt trung bình 11,93 μm và có độ lệch chuẩn StDev = 1,552. Hiện tượng này được giải thích là do khi tăng khoảng cách, lực điện trường giảm làm cho lực Culong giảm. Vì vậy, càng tăng khoảng cách thì kích thước hạt càng tăng do lực điện trường càng giảm, dẫn đến quá trình phân tách hạt không tốt, kết quả là độ đồng đều về kích thước hạt giảm, độ lệch chuẩn càng tăng.

Kết luận

Hình thái của vi hạt PLA chế tạo bằng phương pháp electro spray bị ảnh hưởng bởi các thông số chế tạo như nồng độ polyme, điện thế áp vào và khoảng cách từ đầu kim đến bản thu mẫu. Ở nồng độ PLA 5%, các chuỗi rối polyme hình thành vừa đủ để tạo được vi hạt hình cầu, tuy nhiên bề mặt hạt bị nhẵn do sử dụng dung môi có tốc độ bay hơi cao là chloroform. Trong các điều kiện khảo sát, thông số chế tạo tối ưu để hình thành hạt cầu rời rạc và đồng nhất là 24 kV và 20 cm.

Nghiên cứu này vẫn chưa tạo được các hạt có bề mặt nhẵn, các hạt đồng nhất và có tính lặp lại. Trong các nghiên cứu tới, các dung môi hoặc hệ dung môi có tốc độ bay hơi chậm hơn, và độ dẫn điện cao hơn sẽ được sử dụng để làm dung môi chế tạo hạt như dichloroethane và acetonitrile. Lưu lượng phun và các loại đầu kim sẽ được khảo sát để đánh giá ảnh hưởng lên hình thái và kích thước hạt.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh (VNU-HCM), trong khuôn khổ đề tài mã số B2015 -20a-01. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N. Bock, T.R. Dargaville and M.A. Woodruff (2012), "Electrospraying of polymers with therapeutic molecules: state of the art", *Progress in Polymer Science*, **37**, pp.1510-1551.
- [2] R. Mo, T. Jiang, J. Di, W. Tai and Z. Gu (2014), "Emerging micro-and nanotechnology based synthetic approaches for insulin delivery", *Chemical Society Reviews*, **43**, pp.3595-3629.
- [3] S. Freiberg and X.X. Zhu (2004), "Polymer microspheres for controlled drug release", *International Journal of Pharmaceutics*, **282**, pp.1-18.
- [4] N. Bock, M.A. Woodruff, D.W. Hutmacher, and T.R. Dargaville (2011), "Electrospraying, a reproducible method for production of polymeric microspheres for biomedical applications", *Polymers*, **3**, pp.131-149.
- [5] M. Enayati, Z. Ahmad, E. Stride, and M. Edirisinghe (2010), "One-step electrohydrodynamic production of drug-loaded micro-and nanoparticles", *Journal of the Royal Society, Interface/the Royal Society*, **7**, pp.667.
- [6] S. Chakraborty, I.C. Liao, A. Adler and K.W. Leong (2009), "Electrohydrodynamics: a facile technique to fabricate drug delivery systems", *Advanced Drug Delivery Reviews*, **61**, pp.1043-1054.
- [7] F. Meng, Y. Jiang, Z. Sun, Y. Yin and Y. Li (2009), "Electrohydrodynamic liquid atomization of biodegradable polymer microparticles: Effect of electrohydrodynamic liquid atomization variables on microparticles", *Journal of Applied Polymer Science*, **113**, pp.526-534.
- [8] C.H. Park and J. Lee (2009), "Electrosprayed polymer particles: effect of the solvent properties", *Journal of Applied Polymer Science*, **114**, pp.430-437.
- [9] C. Hu, J. Zhao and W. Cui (2013), "Fabrication and surface characterization of electrosprayed poly (L-lactide) microspheres", *Journal of Applied Polymer Science*, **128**, pp.3177-3183.
- [10] M. Enayati, Z. Ahmad, E. Stride and M. Edirisinghe (2010), "Size mapping of electric field-assisted production of polycaprolactone particles", *Journal of the Royal Society Interface*, doi: rsif20100099.
- [11] S.L. Shenoy, W.D. Bates, H.L. Frisch and G.E. Wnek (2005), "Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit", *Polymer*, **46**, pp.3372-3384.
- [12] N. Arya, S. Chakraborty, N. Dube and D.S. Katti (2009), "Electrospraying: a facile technique for synthesis of chitosan-based micro/nanospheres for drug delivery applications", *J. Biomed. Mater. Res*, **88B**, pp.17-31.
- [13] M. Enayati, Z. Ahmad, E. Stride and M. Edirisinghe (2010), "Size mapping of electric field-assisted production of polycaprolactone particles", *Journal of the Royal Society, Interface/the Royal Society*, **7**, pp.393-402.
- [14] N.V.V. Linh and H.D. Phu (2016), "Fabrication biodegradable polyester microspheres by electrospraying methods for drug carrier application", *Journal of Science and Technology*, **48**, pp.99-106.