电喷雾技术在制备载药聚酯微球中的研究进展

刘红星[1]，赵　锋[1*]，马银玲[1,2]，王仪琛[1]，曹德英[1*]
（1. 河北医科大学药学院药剂学教研室，河北石家庄 050017；2. 河北省人民医院药学部，河北石家庄 050051）

摘要：电喷雾法是一种制备尺寸可控的载药聚酯微球的新型技术，可保持蛋白质、细胞、生长因子、病毒和基因等敏感分子的生物活性，吸引了众多研究者的关注。本研究介绍了电喷雾法的基本原理，并综述了近些年其在制备载药微球中的研究进展，以期为电喷雾法在生物工程和药物递送中的应用、电喷雾产品的开发、批量化生产的实现方面提供参考。

关键词：电喷雾；生物工程；肿瘤；纳米技术；聚酯微球
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)06-0794-07
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.06.004

Research Progress of Electrospray Technology in Preparation of Drug-loaded Polyester Microspheres

LIU Hongxing[1], ZHAO Feng[1*], MA Yinling[1,2], WANG Yichen[1], CAO Deying[1*]
(*1. Dept. of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017;*
2. Dept. of Pharmacy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051)

ABSTRACT: Electrospray is a new technology for preparing drug-loaded polyester microspheres with controllable size. It has attracted interest from researchers for the advantages of protecting bioactivities of sensitive molecules such as proteins, cells, growth factors, viruses and genes by the microspheres. In this paper, the basic principle of electrospray method is introduced, and its research progress in the preparation of drug-loaded microspheres in recent years is reviewed to provide some references for the application in bioengineering and drug delivery, development of electrospray products, and the realization of mass production.

Key Words: electrospray; bioengineering; tumor; nanotechnology; polyester microsphere

基于平稳释放药物、提高生物利用度和精准给药的目的[1—2]，研究者致力于开发出一种理想的药物递送系统，因而提出了各种药物载体的制备方法和技术[3]。聚酯微球是其中备受瞩目的药物载体系统，常用的制备方法包括乳化 - 溶剂挥发法、纳米沉淀法、盐析法、喷雾干燥法、透析法、聚合法、超临界流体技术等[4—11]。但由于包封率低、重现性差、有机溶剂残留等缺点，在药物递送中的应用受到限制[12]。

电喷雾（electrospray，ES）技术对克服上述问题有明显的优势。首先，该工艺无需在苛刻温度下运行，可较好地保护温度敏感成分的活性[13]。其次，因为工艺步骤连续进行，减少了材料损失、提升了效率，对生物分子的包封率较高[14]。最后，通过改变工艺参数、喷嘴结构及制剂处方组成等，可设计微球的形貌及收率，能大大缩短制备时间[15]。

聚丙交酯 - 乙交酯（PLGA）、聚己内酯（PCL）等聚合物电喷涂在生物医学工程和药物递送领域中

收稿日期：2021-09-14
基金项目：国家自然科学基金项目(81773666)、河北省自然科学基金项目(H2020307043)、河北省卫生厅医学科学研究重点课题(20170472)
作者简介：刘红星(1996—)，男，硕士研究生，专业方向：纳米递药系统的设计与评价。
通信作者：曹德英(1959—)，男，博士，教授，从事药物新剂型与新技术的研究。
E-mail：caody3@163.com
赵　锋(1982—)，男，博士，讲师，从事靶向纳米递药系统的研究。
E-mail：zhaofeng-37@163.com

得到了广泛研究[16—20]。其中，PLGA在体内经过水解产生的乳酸和乙醇酸是生物代谢途径中常见的副产物[21]，因此具有良好的生物安全性，常被用于制备具有缓控释性能的微米及纳米级颗粒[22]。

本综述重点介绍采用ES法以PLGA等聚合物为基质材料制备的载药微球在生物工程和药物递送方面的进展及应用，以期能推动该方法的研究、开发电喷雾产品、实现批量化生产。

1 电喷雾微粒制备技术概况

ES又被称为静电流体动力雾化（electrohydrodynamic atomization，EHDA），标准的ES装置由4个主要部件组成：泵送系统、高压电源、与电源相连接的金属喷嘴和带接地基板的收集器[23]。在操作过程中，待喷雾溶液在几至几十千伏的高压电场作用下，产生了足以超过溶液表面张力的静电力，使溶液射流分裂成小液滴。带电荷的小液滴相互排斥，使液滴均匀分布，并且在飞向收集器的过程中溶剂挥发、液滴固结，从而产生微米甚至纳米尺寸的颗粒[24]。喷嘴形态（喷嘴结构、喷头的通道尺寸等）、电喷雾参数（施加电压、流速、工作距离等）、溶液性质（溶液黏度、溶液电导率、表面张力、聚合物相对分子质量、药物浓度、药物载体比例等）和环境条件（温度、湿度等）是影响ES工艺的主要因素[24]。HSU等以产物的粒径和形貌为指标，考察了溶解PLGA的溶剂类型、PLGA溶液的浓度和流速、收集距离（即针尖与收集器之间的距离）、施加电压及喷嘴尺寸等因素对所得聚酯微球的影响[25]。在选定的因素中，溶解聚合物的溶剂类型是影响微球粒径的主要因素，聚合物浓度及收集距离也有一定影响。

2 ES技术在载药聚酯微球中的应用

ES工艺已显示出巨大的潜力，可以用聚合物溶液制备单分散的微米或纳米级颗粒，通过构建包裹低溶解度药物的聚合物递送系统，改善药物溶出度[26]。同时，该法也可避免乳化-溶剂挥发法中水溶性药物损失导致的低包封率问题[27]。此外，ES法可制备包封2种或以上药物的微球，实现联合用药，以期达到更高的疗效[28]。

2.1 ES技术在单载药微球中的应用

WANG等以具有不同端基和相对分子质量的聚合物为基质材料，1%泊洛沙姆407溶液作为收集器，通过ES技术制备了具有相似形状和尺寸的球形载多西环素PLGA微球，并比较了它们载药量和释药特性的差异[29]。体外试验表明，酯封端的PLGA微球释药行为具有3个阶段，即初始突释、滞后释放和加速释放；而酸封端的PLGA微球则表现出突释特性，释放较快。同时观察到，聚合物相对分子质量（17 000和44 000）并未明显影响累积释放率（42 d时，酸封端的2种微球累积释放率约为92%和89%，酯封端微球则约为47%和43%）。可见，端基种类相较于相对分子质量对释放行为的影响更大；同时，PLGA的端基不会影响多西环素对牙龈卟啉单胞菌的抑制作用。因此，在不影响药物生物活性的前提下，通过改变PLGA的端基基团并结合ES法可满足不同的制剂需求。CHATTERJEE等将疏水性药物6-硫代鸟嘌呤（TG）与PLGA溶液混合后采用ES技术制备PLGA-TG纳米微球，并与采用乳化法制成的纳米微球比较[30]。结果表明，ES法制备的产物粒径小（ES法149.10 nm，乳化法268.50 nm）、包封率高（ES法97.22%，乳化法69.84%）。此外，由于外加电场能增强PLGA与TG之间的相互作用，使之形成共价硫酯键，故所得纳米微球结构更稳定，药物可缓慢释放，未出现突释效应。TSIAPLA等以PCL为载体材料、水溶性万古霉素为模型药物，利用ES技术制得了表面光滑、形态均匀的载药纳米微球[31]。体外释放试验结果表明，该纳米微球的释放动力学呈现典型的双相释放模式，即初始突释和后期缓释。在骨科植入手术后需要在手术部位给予高浓度的抗菌药物以预防感染，用ES技术制备的具有双相释放模式的纳米微球有望成为一种有前景的、可减少植入体相关感染、避免手术失败的新策略。

2.2 ES技术在复方载药微球中的应用

近年来，联合疗法因可以提高疗效、减轻不良反应，已成为抗肿瘤的重要治疗方案，尤其是在治疗耐药肿瘤方面[32]。ZHANG等以同轴ES法制备

共载紫杉醇和依托泊苷的PLGA核壳微球，其中PLGA为壳层，2种药物按质量比1∶1溶于二氯甲烷为内核[33]。表征结果显示，制得的微球表面光滑，粒度分布较窄（多分布在1～4 μm），透射电镜下可观察到核壳结构。体外释放曲线显示出该共载药微球具有连续控释作用，药物在人骨肉癌细胞（Saos-2细胞）中的累积增强了抗肿瘤效果，细胞毒性作用也比单独用药强。TANG等也通过同轴ES技术将多柔比星（DOX，D）和长春新碱（VCR，V）共载入PLGA（P）磁性微球中，制备了3种壳核组成不同的微球：Fe_3O_4@(P+D)/V、Fe_3O_4@(P+V)/D、Fe_3O_4@P/(D+V)，其中PLGA与Fe_3O_4始终作为壳层，2种药物或共存于内核或分别载于壳层[34]。结果显示，制备的PLGA磁性微球表面粗糙，粒径小且均匀［上述3种微球粒径分别为(0.33±0.21)、(0.32±0.25)和(0.69±0.55) μm］，透射电镜下可观测到明显的核壳结构，在体外试验表现出磁响应和药物缓释功能。细胞毒性试验表明，低浓度的磁性微球对Saos-2细胞的杀伤作用强，具有良好的生物相容性和潜在的抗肿瘤活性。

3　ES技术在生物工程中的应用

3.1　蛋白质和生长因子的递送

蛋白质和多肽疗法，因其高度的特异性和有效性在临床上得到了越来越广泛的应用[35]。该疗法主要通过胃肠外途径给药[36]，患者依从性较差。因此，有必要寻找一种递送生物药的方法，以提高有效性和依从性。21世纪初，有研究者在ES系统中装备了同轴毛细管样双通道结构喷嘴，用以制备核壳结构颗粒[37]，所得产物显示出可成功封装、控释蛋白质并保持其高生物活性的特性[38]。与复乳法相比，同轴ES技术可减少蛋白质生物活性的损失，因为在ES过程中，蛋白质与有机溶剂之间未发生直接接触[39]。ZHANG等采用同轴ES技术制备了具有核壳结构的重组人骨形态发生蛋白-2（recombinant human bone morphogenetic protein-2，rhBMP-2）PLGA微球，试验过程中用牛血清白蛋白（BSA）稳定rhBMP-2，以保证蛋白活性[40]。通过调节工艺参数，制得的微球粒径小且分布较窄（2.5～8 μm）；体外释放曲线表明该微球的释药速率受到粒径影响，在受试微球中，粒径越大则释放越稳定；与大鼠骨髓间充质干细胞共培养后观察到，该微球的细胞毒性较小，不均匀的表面会增强细胞黏附，对细胞增殖有良好的促进作用，在骨再生治疗和骨组织工程方面具有较大潜力，是输送多肽的理想载体。

不同的治疗方案要求药物有不同的释放行为。采用不同方法制备的微球，其释药行为会存在差异，但原因尚不明确。ZHAO等以血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）为模型药物，分别采用乳液ES（即将制备好的w/o型乳液进行单轴ES）和同轴ES方法制备了核壳PLGA微球，均可实现对VEGF的有效包裹[41]。电镜观察和体外释放结果表明，不同ES方法制备的微球具有不同的形貌和结构，且VEGF的释放情况也不尽相同。由乳液ES法制备的微球表面有纳米级孔道，内核存在多室，VEGF的释放呈现两相特征。与之不同的是，同轴ES法得到的微球表面具有高尔夫球状纹理，其内核为单室，先期突释比前法所得制品要快。由于VEGF的释放行为不同，对血管内皮细胞产生的刺激反应也不同，因此可按临床实际要求控制VEGF的释放，为达到特定治疗目的提供新的解决方法。

3.2　病毒和基因的递送

基因疗法是一种非常有潜力的疾病治疗方案[42]。研究者将增强型绿色荧光蛋白（EGFP）质粒与肺泡上皮样细胞进行ES处理，以绿色荧光蛋白报告基因（η-T）为指标，考察各种参数如外加电压、工作距离、喷雾顺序和溶解质粒的溶剂等对转染效率的影响[43]。细胞试验结果表明其转染效率较高［(58.6±2.6％］，重复性好，在小鼠皮下肿瘤中观察到了EGFP阳性细胞，因此认为ES在基因的体内传递方面有潜在的应用价值。FURTMANN等以PLGA为载体，分别采用复乳法和ES法制备载人巨细胞病毒（HCMV）*pp65*基因和IE-1（立即早期蛋白）基因的单分散纳米粒子[44]，并比较了所得颗粒的形貌和包封率。结果表明，ES技术制备的单

分散颗粒对多肽的包封率较高（近 85%），粒度分布窄，而复乳法制品的包封率仅为 20%；并且，与外周血单核细胞共孵育后能够促进肿瘤坏死因子 α 和干扰素 γ 的产生，提高抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞的增殖能力。

利用 ES 技术封装病毒以避免其失活并受控释放是一种很有前途的递送策略，但需要仔细考虑病毒的敏感性质并控制加工条件[45]。虽然 ES 技术对生物活性几乎没有影响，但关于它与病毒一起使用的研究非常有限。SANDERS 等选择了 2 种治疗性病毒：腺病毒（Ad）和改良型安卡拉痘苗病毒（MVA），通过测定人肺癌细胞（A549 细胞）与病毒孵育后产生的发光强度来评估病毒的感染性，以验证 ES 技术用于包封病毒的可行性，并对单轴和同轴 ES 进行比较[45]。结果表明，在操作电压为 8 ～ 16 kV 时，2 种病毒的感染性均未受到影响。同轴 ES 法用二氯甲烷作为外针溶液，其感染性也没有受到有机溶剂影响。

上述研究证明 ES 技术适于制备单分散、包封率高的 PLGA 纳米微球作为肽基疫苗载体。但值得注意的是，PLGA 纳米微球在体内的分布、代谢、排泄和有效性等问题仍需要进一步研究。

3.3 细胞递送

将活细胞包裹在保护性、半渗透性的微粒中以控制细胞因子的释放，在细胞治疗上也有应用前途[46]。目前已有几种不同的细胞负载方法，如微流控法、凝胶法、乳液法和挤压法等[47—50]。

海藻酸盐毒性低、具有良好的生物相容性和生物降解性，可通过添加 Ca^{2+}、Ba^{2+}、Sr^{2+} 等二价阳离子进行简单、快速的凝胶化，从而负载细胞或药物并释放到靶组织或损伤中[51]。WU 等以海藻酸盐与氯化钙溶液的交联反应为基础，利用 ES 技术制备了包裹从非霍奇金淋巴瘤患者体内分离出的自然杀伤细胞（NK-92MI 细胞）的多孔微球，用于肿瘤免疫治疗[52]。细胞试验和 BALB/c 荷瘤裸鼠试验结果表明，微球中的 NK-92MI 细胞可持续分泌杀伤肿瘤细胞的穿孔素和颗粒酶。因为 NK-92MI 细胞可保持活性并不断增殖，萌发出来的细胞可从微球表面向周围肿瘤组织迁移，进一步杀伤肿瘤细胞。另一项研究则以 PLGA 为基质材料，采用析因分析系统地研究了壳、核层溶液的流速、浓度、流速比等参数对载药微球包封率和粒径的影响，并采用最优处方包封小鼠胚胎成纤维细胞（NIH/3T3 细胞）进行验证[53]。活体 / 死亡染色试验结果表明，在喷射过程中，细胞能够承受 10 ～ 12 kV 的外加电压，并保持活性。由此，研究者认为通过将细胞微囊化能使其在生物工程和药物递送领域得到广泛的应用。

4 总结和展望

在微米或纳米级微球制备领域，人们一直在探索一种成本低廉、操作简单、重复性好、尺寸可控、可批量化生产的制备方法。ES 技术可通过改变处方工艺参数如溶液性质、喷嘴结构及通道尺寸、收集方法等制备形态可控的微球，不仅可以负载疏水性或亲水性小分子化学药，还可包封生物大分子药物并保持其活性。此外，该技术在复方药物递送和生物工程方面也显示出应用潜力。尽管 ES 法在制备载药微球方面取得了显著进展，但仍存在收率低、影响因素及具体机制不明确、微球收集和纯化困难、微球易聚集等问题，因此还没有采用该技术的产品上市。今后的研究重点应集中在研究喷嘴的结构和尺寸与微球结构和释放特性的关系，微球收集方法与其稳定性、纯化、浓缩的关系等方面，为 ES 技术的进一步工业化应用提供帮助。

参考文献：

[1] LUAN X S, BODMEIER R. Influence of the poly(lactide-*co*-glycolide) type on the leuprolide release from *in situ* forming microparticle systems [J]. *J Control Release*, 2006, **110**(2): 266-272.

[2] YANG Y Y, CHIA H H, CHUNG T S. Effect of preparation temperature on the characteristics and release profiles of PLGA microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method [J]. *J Control Release*, 2000, **69**(1): 81-96.

[3] FREITAS S, MERKLE H P, GANDER B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation:

reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology [J]. *J Control Release*, 2005, **102**(2): 313-332.

[4] QIU L, ZHAO X H, ZU Y G, *et al*. Ursolic acid nanoparticles for oral delivery prepared by emulsion solvent evaporation method: characterization, *in vitro* evaluation of radical scavenging activity and bioavailability [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, **47**(1): 609-620.

[5] FAR J, ABDEL-HAQ M A, GRUBER M, *et al*. Developing biodegradable nanoparticles loaded with mometasone furoate for potential nasal drug delivery [J]. *ACS Omega*, 2020, **5**(13): 7432-7439.

[6] SONG W S, GREGORY D A, AL-JANABI H, *et al*. Magnetic-silk/polyethyleneimine core-shell nanoparticles for targeted gene delivery into human breast cancer cells [J]. *Int J Pharm*, 2018, **555**: 322-336.

[7] ELMASKAYA A, ÖZTÜRK A A, BUYUKKOROGLU G, *et al*. Spray-dried ketoprofen lysine-incorporated PLGA nanoparticles; formulation, characterization, evaluation and cytotoxic profile [J]. *Indian J Pharm Sci*, 2019, **81**(4): 640-650.

[8] JOSHY K S, SUSAN M A, SNIGDHA S, *et al*. Encapsulation of zidovudine in PF-68 coated alginate conjugate nanoparticles for anti-HIV drug delivery [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, **107**: 929-937.

[9] CHEN H L, WEI X J, QIN J W, *et al*. Synthesis, characterization and *in vivo* efficacy of biotin-conjugated pullulan acetate nanoparticles as a novel anticancer drug carrier [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2017, **13**(9): 1134-1146.

[10] OBINU A, RASSU G, CORONA P, *et al*. Poly(ethyl 2-cyanoacrylate) nanoparticles(PECA-NPs) as possible agents in tumor treatment [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, **177**: 520-528.

[11] XU P Y, KANKALA R K, PAN Y J, *et al*. Overcoming multidrug resistance through inhalable siRNA nanoparticles-decorated porous microparticles based on supercritical fluid technology [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, **13**: 4685-4698.

[12] CHEN X Y, CHEN J Y, TONG X M, *et al*. Recent advances in the use of microcarriers for cell cultures and their *ex vivo* and *in vivo* applications [J]. *Biotechnol Lett*, 2020 , **42**(1): 1-10.

[13] XIE J W, JIANG J, DAVOODI P, *et al*. Electrohydrodynamic atomization: a two-decade effort to produce and process micro-/nanoparticulate materials [J]. *Chem Eng Sci*, 2014, **125**: 32-57.

[14] WANG P X, YUE L , JIANG M P. Effects of the multilayer structures on Exenatide release and bioactivity in microsphere/thermosensitive hydrogel system [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, **171**: 85-93.

[15] MEHTA P, HAJ-AHMAD R, RASEKH M, *et al*. Pharmaceutical and biomaterial engineering via electrohydrodynamic atomization technologies [J]. *Drug Discov Today*, 2016, **22**(1): 157-165.

[16] MUSIAŁ-KULIK M, WŁODARCZYK J, STOJKO M, *et al*. Bioresorbable, electrospun nonwoven for delayed and prolonged release of temozolomide and nimorazole [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2021, **161**: 29-36.

[17] SARTAWI Z, WAEBER C, SCHIPANI E, *et al*. Development of electrospun polymer scaffolds for the localized and controlled delivery of siponimod for the management of critical bone defects [J]. *Int J Pharm*, 2020, **590**: 119956.

[18] XUE J J, WU T, LI J H, *et al*. Promoting the outgrowth of neurites on electrospun microfibers by functionalization with electrosprayed microparticles of fatty acids [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, **58**(12): 3948-3951.

[19] HUANG W D, HOU Y, LU X Y, *et al*. The process-property-performance relationship of medicated nanoparticles prepared by modified coaxial electrospraying [J]. *Pharmaceutics*, 2019, **11**(5): 226.

[20] VARSHOSAZ J, MINAIYAN M, DAYYANI L. Poly(methyl vinyl ether-*co*-maleic acid) for enhancement of solubility, oral bioavailability and anti-osteoporotic effects of raloxifene hydrochloride [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, **112**: 195-206.

[21] PANYAM J, DALI M M, SAHOO S K, *et al*. Polymer degradation and *in vitro* release of a model protein from poly(D,L-lactide-*co*-glycolide) nano-and microparticles [J]. *J Control Release*, 2003, **92**(1/2): 173-187.

[22] CHANG H I, PERRIE Y, COOMBES A G A. Delivery of the antibiotic gentamicin sulphate from precipitation cast matrices of polycaprolactone [J]. *J Control Release*, 2006, **110**(2): 414-421.

[23] NGUYEN D N, CLASEN C, VAN DEN MOOTER G. Pharmaceutical applications of electrospraying [J]. *J Pharm*

Sci, 2016, **105**(9): 2601-2620.

[24] FARAMARZI A R, BARZIN J, MOBEDI H. Effect of solution and apparatus parameters on the morphology and size of electrosprayed PLGA microparticles [J]. *Fibers Polym*, 2016, **17**(11): 1806-1819.

[25] HSU M Y, FENG C H, LIU Y W, *et al*. An orthogonal model to study the effect of electrospraying parameters on the morphology of poly (D,L)-lactide-*co*-glycolide (PLGA) particles [J]. *Appl Sci*, 2019, **9**(6): 1077.

[26] GOMEZ-ESTACA J, BALAGUER M P, GAVARA R, *et al*. Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin [J]. *Food Hydrocol*, 2012, **28**(1): 82-91.

[27] RODRIGUEZ DE ANDA D A, OHANNESIAN N, MARTIROSYAN K S, *et al*. Effects of solvent used for fabrication on drug loading and release kinetics of electrosprayed temozolomide-loaded PLGA microparticles for the treatment of glioblastoma [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2019, **107**(17): 2317-2324.

[28] CUI X M, LI X L, XU Z L, *et al*. Fabrication and characterization of chitosan/poly (lactic-*co*-glycolic acid) core-shell nanoparticles by coaxial electrospray technology for dual delivery of natamycin and clotrimazole [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, **9**: 635485.

[29] WANG J M, HELDER L, SHAO J L, *et al*. Encapsulation and release of doxycycline from electrospray-generated PLGA microspheres: effect of polymer end groups [J]. *Int J Pharm*, 2019, **564**: 1-9.

[30] CHATTERJEE M, JAISWAL N, HENS A, *et al*. Development of 6-thioguanine conjugated PLGA nanoparticles through thioester bond formation: benefits of electrospray mediated drug encapsulation and sustained release in cancer therapeutic applications [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **114**: 111029.

[31] TSIAPLA A R, BAKOLA V, KARAGKIOZAKI V, *et al*. Biodegradable electrosprayed NPs as drug carriers for optimal treatment of orthopaedic infections [J]. *Mater Today: proceed*, 2019, **19**(1): 110-116.

[32] RAMASAMY T, HAIDAR Z S, TRAN T H, *et al*. Layer-by-layer assembly of liposomal nanoparticles with PEGylated polyelectrolytes enhances systemic delivery of multiple anticancer drugs [J]. *Acta Biomater*, 2014, **10**(12): 5116-5127.

[33] ZHANG M, TANG Y J, ZHU Z H, *et al*. Paclitaxel and etoposide-loaded poly (lactic-*co*-glycolic acid) microspheres fabricated by coaxial electrospraying for dual drug delivery [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2018, **29**(16): 1-20.

[34] TANG Y J, ZHAO H, YAO J H, *et al*. A doxorubicin and vincristine drug release system based on magnetic PLGA microspheres prepared by coaxial electrospray [J]. *J Mater Sci*, 2019, **54**(13): 9689-9706.

[35] NGUYEN P V, HERVÉ-AUBERT K, DAVID S, *et al*. Targeted nanomedicine with anti-EGFR scFv for siRNA delivery into triple negative breast cancer cells [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, **157**: 74-84.

[36] GERALDES D C, BERALDO-DE-ARAÚJO V L, PARDO B O P, *et al*. Protein drug delivery: current dosage form profile and formulation strategies [J]. *J Drug Target*, 2020, **28**(4): 339-355.

[37] LOSCERTALES I G, BARRERO A, GUERRERO I, *et al*. Micro/nano encapsulation via electrified coaxial liquid jets [J]. *Science*, 2002, **295**(5560): 1695-1698.

[38] XIE J W, NG W J, LEE L Y, *et al*. Encapsulation of protein drugs in biodegradable microparticles by co-axial electrospray [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2008, **317**(2): 469-476.

[39] ANGKAWINITWONG U, COURTENAY A J, RODGERS A M, *et al*. A novel transdermal protein delivery strategy via electrohydrodynamic coating of PLGA microparticles onto microneedles [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(11): 12478-12488.

[40] ZHANG M, MA Y L, LI R J, *et al*. RhBMP-2-loaded poly (lactic-*co*-glycolic acid) microspheres fabricated by coaxial electrospraying for protein delivery [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2017, **28**(18): 2205-2219.

[41] ZHAO Q L, WANG M. Manipulating the release of growth factors from biodegradable microspheres for potentially different therapeutic effects by using two different electrospray techniques for microsphere fabrication [J]. *Polym Degrad Stabil*, 2019, **162**: 169-179.

[42] ITANI R, AL FARAJ A. siRNA conjugated nanoparticles—a next generation strategy to treat lung cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(23): 6088.

[43] BOEHRINGER S, RUZGYS P, TAMÒ L, *et al*. A new

electrospray method for targeted gene delivery［J］. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 4031.

［44］ FURTMANN B, TANG J, KRAMER S, *et al*. Electrospray synthesis of PLGA nanoparticles encapsulating peptides to enhance proliferation of antigen-specific $CD8^+$ T cells［J］. *J Pharm Sci*, 2017, **106**(11): 3316-3327.

［45］ SANDERS T 2nd, MILICIC A, STRIDE E. Investigating the effect of encapsulation processing parameters on the viability of therapeutic viruses in electrospraying［J］. *Pharmaceutics*, 2020, **12**(4): 388.

［46］ ORIVE G, SANTOS E, PEDRAZ J L, *et al*. Application of cell encapsulation for controlled delivery of biological therapeutics［J］. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, **67-68**: 3-14.

［47］ MORA-BOZA A, MANCIPE CASTRO L M, SCHNEIDER R S, *et al*. Microfluidics generation of chitosan microgels containing glycerylphytate crosslinker for *in situ* human mesenchymal stem cells encapsulation［J］. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **120**: 111716.

［48］ DINIZ I M A, CHEN C, XU X T, *et al*. Pluronic F-127 hydrogel as a promising scaffold for encapsulation of dental-derived mesenchymal stem cells［J］. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, **26**(3): 153.

［49］ INOO K, YAMAMOTO M, TABATA Y. Preparation of cell aggregates incorporating gelatin hydrogel microspheres of sugar-responsive water solubilization［J］. *J Tissue Eng Regen Med*, 2020, **14**(8): 1050-1062.

［50］ JY W, REHNI A K, BIDOT C J R, *et al*. Pharmacokinetics of human red blood cell microparticles prepared using high-pressure extrusion method［J］. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 599.

［51］ HUANG F Y, SUN L Y, ZHAO C, *et al*. Protein microcapsules integrated hierarchical scaffolds for local treatment of acute myocardial infarction model［J］. *Appl Mater Today*, 2021, **22**: 100901.

［52］ WU D , YU Y R, ZHAO C, *et al*. NK cell-encapsulated porous microspheres via microfluidic electrospray for tumor immunotherapy［J］. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, **11**(37): 33716-33724.

［53］ ESFAHANI R R, JUN H, RAHMANI S, *et al*. Microencapsulation of live cells in synthetic polymer capsules［J］. *ACS Omega*, 2017, **2**(6): 2839-2847.