



## Formulation and *In Vitro* Evaluation of Lysozyme-Loaded PLGA Microspheres Fabricated by One-Step Electro spraying Method

Hongfei LIU<sup>1</sup>, Jumei XI<sup>1</sup>, Haiming GENG<sup>2</sup>, Gebing CHEN<sup>1</sup>, Yuan ZHU<sup>1</sup>,  
Shuangshuang SHI<sup>1</sup>, Yi xiang DONG<sup>3\*</sup> & Jin CAO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu, China.

<sup>2</sup> Grandpharma Co. Ltd, Wuhan Hubei, China.

<sup>3</sup> Jiangsu Haichuan Biotechnology Co. Ltd., Zhenjiang, Jiangsu, China.

**SUMMARY.** The objective of this study was to innovatively formulate lysozyme-loaded poly (lactide-co-glycolide, PLGA) microspheres by electro spraying and evaluate its pharmaceutical characteristics and bioactivity. The lysozyme-loaded PLGA microspheres were prepared using the electro spraying technique. The preparation conditions were established via certain key parameters. Three batches of microspheres were formed and its stability, as well as the reliability of the method were evaluated. The characteristics of lysozyme-loaded PLGA microspheres were compared to others formulated via double emulsion. The biocompatibility of the electro spraying process was also investigated to ascertain the activity of the proteins. The lysozyme-loaded PLGA microspheres were successfully prepared with high encapsulation efficiency and drug loading. The diameter of the microspheres ranged from 3.76 to 3.89  $\mu\text{m}$  and it achieved a sustained release with  $80.7 \pm 2.8\%$  for 30 days. The bioassay analysis revealed that the lysozyme activity was maintained in the course of the preparation, but reduced at the time of degradation. The results show that the single-step electro spraying method was a promising way to prepare protein-loaded PLGA microspheres.

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue formular microesferas de polilactida co-glicólido (PLGA) cargadas con lisozima por electropulverización y evaluar sus características farmacéuticas y bioactividad. Las microesferas se prepararon usando la técnica de electropulverización. Las condiciones de preparación se establecieron a través de ciertos parámetros clave. Se formularon tres lotes de microesferas y se evaluó su estabilidad, así como la fiabilidad del método. Las características de las microesferas de PLGA cargadas con lisozima fueron comparadas con otras formuladas a través de doble emulsión. También se investigó la biocompatibilidad del proceso de electropulverización para determinar la actividad de las proteínas. Las microesferas de PLGA cargadas con lisozima se prepararon con éxito con alta eficiencia de encapsulación y carga de fármaco. El diámetro de las microesferas varió desde 3,76 hasta 3,89  $\mu\text{m}$  y se logra una liberación sostenida de  $80,7 \pm 2,8\%$  durante 30 días. El análisis por bioensayo reveló que la actividad de la lisozima se mantuvo en el curso de la preparación, pero se redujo en el momento de la degradación. Los resultados muestran que el método electropulverización de un solo paso es una forma prometedora para preparar microesferas de PLGA cargadas con proteínas.

**KEY WORDS:** double emulsion, electro spraying, lysozyme, microspheres, PLGA.

\* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mail: caojinuj@163.com (Jin Cao), Yixiang601@googlegmail.com (Yixiang Dong)