Release proporties of ovalbumin from alginate microspheres prepared using the nozzle in spray dryer system

Jeong-Eun Park[1], Chang-Moon Lee[2], Hee-Jung Park[1], Gwang-Yun Kim[3],
Joon-Haeng Rhee[4], Ki-Young Lee[5]

[1]Department of Material & Biochemical Engineering,
[2]Interdisciplinary Program of Biomedical Engineering,
[3]Ecobio Inc., Business Incubation Center, Chonnam National University,
[4]Department of Microbiology, Chonnam National University Medical School,
[5]Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University.
TEL: +82-62-530-0327, FAX: +82-62-530-1869

Abstract

The spray method was chiefly used to prepare alginate microspheres. Additionally due to formation at mild conditions, the alginate microspheres were coated with chitosan. The particle size of alginate microspheres increased when the sodium alginate increased. Release pattern of OVA in alginate microspheres was evaluated at PBS buffer(pH 7.4) and HCl buffer(pH 1.2). Release rate of OVA from chitosan/alginate microsphere was also lower than that with the concentration of alginate in the microspheres, the amount of OVA released from alginate microspheres increased from alginate micorsphere.

Therefore, the alginate microspheres can be prepared by spray rozzle for a protein drug delivery. OVA release from the alginate microspheres was controlled by a coating with chitosan.

Introduction

Alginate는 pH에 안정한 hydrogel로서 경구 투여 시, 독성이 없고 물리적 조건으로 분산되는 생분해의 장점이 있다.[1)] 이러한 alginate는 낮은 pH(위액의 조건)에서 움추러 들어 캡슐화 된 약물을 방출하지 않는다.[2)] Peptide나 단백질의 경구투여의 설계에서, alginate는 상온에서 유기용매 없이 쉽게 hydrogel을 형성하여 활성이 손상되기 쉬운 세포나 단백질, peptide 같은 약물을 운반하는 전달체로 주목받고 있다.[3)] 이러한 alginate를 이용한 미세입자 제조 방법은 크게 분무법과 유화법으로 구분된다. 분

무법은 spray 노즐로 미세하게 분무하여 염화칼슘 용액으로 가교함으로써 미세입자를 제조한다.

본 연구에서는 spray dryer (SD-1000, EYELA, Japan)에 장착된 노즐을 이용하여 alginate 미세입자를 제조하였고 alginate의 농도를 달리하고 양이온의 chitosan을 농도에 따라 가교하여 입자의 생성과 입자로부터 약물 방출의 경향을 조사하였다.

Methods

Preparation of alginate microspheres by spray method 교반중인 10%의 염화칼슘 용액 400 ㎖에 spray nozzle (SD-1000, EYELA, Japan) 을 이용하여 1, 2, 2.5%(w/v)의 alginate 20 ㎖를 분무하였다. 분무 후 교반을 멈추고 충분히 가교가 되어 가라앉을 때 까지 기다린 후, 증류수로 세척하고 동결 건조하였다.

Preparation of chitosan/alginate microspheres by spray method 앞의 실험의 최적조건으로 2.5%의 alginate를 1, 2, 3%의 chitosan이 용해된 염화칼슘용액에 분무하였다. 분무 후 위와 같은 방법으로 세척하고 동결건조하였다.

Morphology 제조된 micorshperes를 graphite surface에 놓고 Ion-sputter (JEOL, JFC-1100, Japan)를 사용하여 20 mA에서 5분 동안 gold/palladium으로 코팅시킨 후 SEM(scanning electron microscope, JEOL, JSM 5400, Japan)을 이용하여 20 kV 조건에서 관찰하였다.

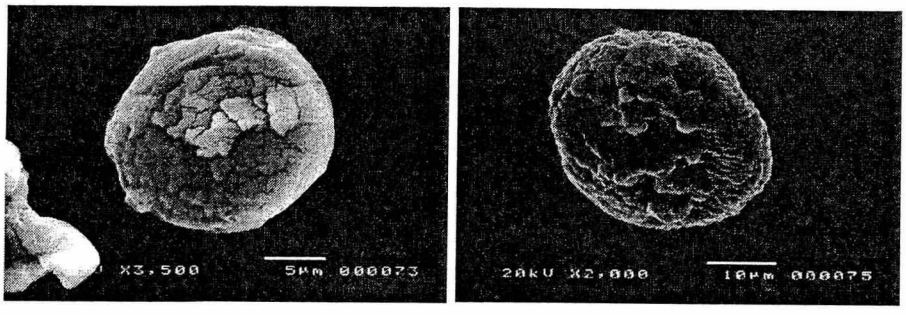
OVA release studies from alginate microshperes Ovalbumin을 alginate 20 ㎖에 100 ㎎씩을 넣어 microspheres를 제조하고 PBS buffer(pH 7.4)와 HCl buffer(pH 1,2)에 각각 넣어 이를 37℃의 항온조에서 약물방출실험을 하였다.

Results and discussion

Morphology 제조된 microsphere을 SEM으로 관찰한 결과 구의 형태를 관찰하였고(Fig. 1), 그 크기는 alginate의 농도가 증가할수록 줄어드는 것을 확인할 수가 있었다(Table 1). Chitosan/alginate microspheres는 alginate microspheres보다 크기가 증가하였고(Fig 2), chitosan의 농도 증가에 따라 그 크기는 점차 증가하는 것을 확인할 수가 있었다.

Table 1. Mean size of alginate microspheres

Alginate con. (w/v)		
1.0%	2.0%	2.5%
6.509 μm	5.038 μm	6.877 μm



(a) (b)

Fig. 1. SEM images of alginate microspheres. (a) 2%, (b) 2.5% of alginate

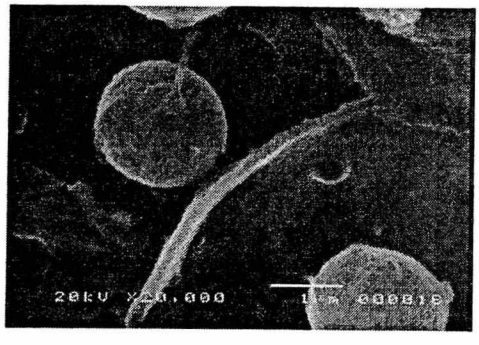


Fig 2. SEM image of chitosan.alginate microspheres 2%

Release of OVA from alginate microsphere Alginate 농도가 증가할수록 OVA의 방출량은 감소하였고, HCl buffer에서보다 PBS buffer의 방출이 더 잘되는 것을 보였다. 또한, chitosan의 농도가 증가할수록 OVA의 방출량은 감소하였고, 이 또한 PBS buffer에서 더 방출이 잘 되는 것을 보였다.

Summary

분무법을 이용한 alginate microsphere를 제조한 결과 구형을 형성하는 것을 관찰하였고, 이러한 alginate microsphere에서 alginate 농도가 증가할수록 크기는 작아지고, chitosan/alginate microsphere에서 chitosan의 농도가 증가할수록 그 크기가 증가하는 것을 확인하였다. OVA의 방출정도는 alginate microsphere에서 alginate 농도가 증가할수록 잘 이루어지지 않았고, HCl buffer에서보다 PBS buffer에서 방출이 잘되는 것을 확인하였다. Chitosan/alginate microspheres에서는 chitosan의 농도가 증가할수록 방출이 잘되지 않았고, 이는 alginate microsphere에서와 마찬가지로 PBS buffer에서 방출이 잘 이루어지는 것을 확인하였다.

Acknowledgements

본 연구는 2004년 지역혁신인력양성사업 연구비의 지원에 의해 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

References

1. C.A. Gilligan and A. Li Wan Po, oral vaccines: desing and delivery, Int. J. Pharm, 75, 1-24(1991).
2. T.L. Bowersock, H. Hogen Esch, M. Suckow, R.E. Porter, R. Jackson, H. Park and K. Park, Oral vaccination with alginate microsphere systems, J. Control. Rel., 39, 209-220(1996).
3. M. Ramadas, W. Paul, K.J. Dileep, Y. Anitha, C.P. Sharma, Lipoinsulin encapsulated alginate-chitosan capsules: intestinal delivery in diabetic rats, J. Appl. Polym. Sci. 59, 1795-1801(1996).
4. A.O. Okhamafe, B. Amsden, W. Chu, M.F.A. Goosen, Modulation for protein release from chitosan-alginate microcapsules using the pH-sensitive polymer hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate, J. Microencapsul. 12, 497-508(1996).
5. K. Park, W.S.W. shalaby, H. Park, Biodegradable Hydrogels for Drug Delivery, Technomic, Lancaster, Ch. 5, 99-140(1993).