

可分解的奈米載體對於藥物安定性及控  
制釋放的應用

Stabilization and Controlled Release of Active  
Agents via a Degrading Nano-Carrier

交通大學材料科學與工程學系

計畫主持人：陳三元 教授

中華民國九十四年六月

# 可分解的奈米載體對於藥物安定性及控制釋放的應用

## 摘 要

本研究主要是以奈米缺鈣型氫氧基磷灰石(Calcium-deficient Hydroxyapatite, CDHA)與幾丁聚醣(Chitosan, CS)兩相摻和之無機奈米-有機複合材料為主，來探討這種奈米缺鈣型氫氧基磷灰石的物理性質與其對於藥物(PBS 及維他命 B12)滲透的行為及藥物安定性。

將鈣、磷與幾丁聚醣等前驅物，以 in-situ 製備(磷酸溶液與幾丁聚醣先混合，最後加入醋酸鈣溶液)合成的 CDHA-CS 複合材料之滲透係數最低，可能因為 CDHA 與 CS 交聯程度高、CDHA 與 CS 界面最好、粒子小且均勻分散所造成的。以有機/無機比例為變數，隨著 CDHA 含量提高，使得交鏈程度上升，也導致孔隙度的提高。而其中以 CS 含量為 90%，所得滲透係數最低。當加入聚丙烯酸(Polyacrylic acid, PAA)改善 CDHA 與 CS 之間的界面，結果顯示，以先合成 CDHA 再加入 PAA，最後加入幾丁聚醣的製程，其滲透係數最低，對於藥物安定性較高，可能的因素為交鏈程度高、三種材料間的界面良好、均勻分散。當 PAA 含量過少或是太多，均會降低 PAA 界面整合的功能，使得滲透係數上升。會導致藥物較不穩定，且不易控制藥物釋放。這些研究可提供做為杏力奈米公司未來在這方面研究發展或商業化參考的依據。

## ABSTRACT

The object of this study was to manipulate the drug permeability and stability of nano Ca-deficient hydroxyapatite/Chitosan (CDHA/CS) nanocomposite membrane incorporated with vitamins for drug storage and controlled release. The physical properties and drug permeation behaviors of Ca-deficient hydroxyapatite/Chitosan (CDHA/CS) nanocomposite membrane were systematically investigated in terms of different synthetic sequence and inorganic filler amount. It was found that the lowest permeation coefficient was obtained via in-situ process (P-CS-Ca), which was probably due to the higher crosslinking extent, better interface between filler and matrix, and smaller particle size, as well as dispersion. With an increase of CDHA content, both crosslinking and diffusion path would be increased so that the permeation coefficient of CDHA/CS composite membrane was reduced compared to that of pure chitosan membrane. A minimum permeation coefficient occurs at the CDHA content of 90%. In this condition, the drug can be safely stored for a long time.

## 1、前言

藥物包附在材料科學中已經引起相當興趣且研究很久了。早期藥物包附只是簡單的形式，很少強調其功能的強化，例如：維持藥物活性、改善療效、延長釋放時間...。然而，而且的確很難使一般藥劑人員認知材料科學在製藥過程中是不可或缺的部分。然而由於一連續以材料科學技術的發展及不斷改變，尤其奈米材料工程出現後。某些藥物活性或食物要素因為和氧氣有不好的作用、濕氣、壓力、甚至光線而氧化、水解等周圍環境因素導致劇烈衰敗。維他命 C 氧化是常見的現象，使維他命 C 顏色由白色變褐色，隨著時間慢慢失去療效。除了便宜的維他命 C，有許多昂貴的藥物用來治療腫瘤或慢性病，會有活性保存期限，有些到使用之前藥效已經逐漸消失了。目前在藥物包附技術的發展趨勢，一直是針對藥物保存和藥物療效加強效果。尤其在服用後。而配合奈米科技的發展，對於新的投藥方式，兼顧活性保存和減緩釋放是首要。

在藥物的包覆，必須考量其機械強度、生物相容性(Biocompatible)以及可分解性。在無機材料方面，依與有機體組織間的活性高低分為三類，生物吸收性(Bioresorbable)、生物活性(Bioactive)、生物惰性(Bioinert)。生物吸收性材料可被人體吸收，如三鈣磷酸鹽。生物活性材料植入體內後，材料表面會在植入處產生鍵結，使得植入物與有機體產生穩固結合，如氫氧基磷灰石、生醫玻璃。生物惰性材料在有機體內性質相當穩定，不會與有機體產生反應，其生物親和性相當良好，如二氧化矽<sup>(1)</sup>。

生醫高分子材料具有生物相容性、生物可分解性、低毒性及免疫性、分解所產生之低分子物應不具毒性、適當的分解與吸收速率、適當的機械性質等特性。依來源可分為天然高分子：幾丁質/幾丁聚醣(Chitin/Chitosan)、膠原蛋白(Collagen)、透明質酸(Hyaluronic Acid)等，以及合成高分子：聚乳酸(Polylactide, PLA)、Poly(lactide-co-glycolide)(PLGA)、Poly( $\epsilon$ -caprolactone)(PCL)等。

當物質小到奈米尺度時，展現了許多不同以往的特異性質，因奈米科技為目前科技發展的重點，所有的領域幾乎都跨入奈米新層面，在生物醫學領域也是如此，因此有必要去探討此奈米複合材料載體對於藥物有長時間安定性和釋放控制速率。因此本計畫將以 *in-situ process* 的製程控制概念去包附藥物來製作成具有奈米結構，充當藥物的承載體(carrier)，達到長時間安定性，使藥物避免產生變性

(Denature)的問題。整個研究重點主要是探討及瞭解此奈米複合材料的製程對於滲透性及藥物的釋放控制速率，以期其可用於藥物載體及穩定藥物安定性。

## 2、研究目的

磷酸鈣陶瓷(Calcium phosphate ceramics, CPC)已被應用於生物醫學設備已有一段很長的歷史，像整型外科、骨骼修補、藥物釋放方面等都常被使用。在眾多的CPC衍生物當中，就生物相容性與可降解性的考量，以缺鈣型氫氧基磷灰石[calcium-deficient apatites,  $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ ,  $0 \leq x \leq 1$ , CDHA] 會比氫氧基磷灰石[hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HA] 及β型三鈣磷酸鹽(beta-tricalcium phosphate, β-TCP) 之來的好。因此本實驗選用CDHA作為在此研究中之藥物載體材料。

幾丁聚醣(Chitosan, CS)由於其製備來源來自天然物、存量豐富、低毒性及具有生物相容性之優點，已被廣泛應用於細胞與酵素固定化、藥物緩釋系統、化妝品、健康食品、分離純化及生物醫學等不同領域，幾丁聚醣其主要之功能特性為其官能基於化學修飾及交聯化、可利用製備方式改變其離子化凝膠特性，製成微膠、微珠及薄膜，等藥物載體，其吸附性、抗菌性、生物相容性、生物可分解性針對不同之標的發揮其效能，可做為抗凝血劑、降膽固醇劑等藥物緩釋。在磷酸鈣陶瓷與幾丁聚醣複合材料的研究中，將磷酸鈣陶瓷(CDHA)與幾丁聚醣(CS)混摻，以不同添加順序為製程變數，並製作成薄膜，探討其物理性質與藥物滲透、釋放之速度並比較其差異。接著選擇其中藥物滲透、釋放之速度較慢的製程，改變兩材料混摻之比例，以探討有機/無機含量的影響，並製作成薄膜，來探討其物理性質對藥物的穩定性與藥物釋放速度。

## 3、文獻探討

氫氧基磷灰石(HA)於生醫方面的應用上，因侷限於其機械性質不佳，驅使許多研究方向將其作成複合材料，以改善氫氧基磷灰石於機械性質方面如脆性、強度等等的問題。為了要彌補氫氧基磷灰石強度的不足，可加入高分子材料來提高強度。幾丁質(chitin)是自然界中含量僅次於纖維素(cellulose)之直鏈狀聚合物，廣泛存在於甲殼類動物之外殼及真菌類細胞壁，亦是地球上蘊藏量最豐富的胺醣類(amino sugar)之多醣化合物，將幾丁質經去乙酰基處理可得幾丁聚醣(Chitosan)。

以幾丁聚醣為基底的水膠，大可分為 pH 敏感性水膠、熱敏感性水膠兩種。由於幾丁聚醣的分子鏈上具有胺基，在酸性環境下被質子化而帶正電，形成排斥力而使其膨潤，因此以幾丁聚醣為藥物釋放載體的適用範圍以酸性環境為主，也是因為其對 pH 值具敏感性，因此有許多研究以此特點做成水膠、薄膜並加以應用。又或者將幾丁聚醣本身加以改質，利用接上不同官能基，使其在酸性環境中產生收縮反應，達到在鹼性環境下釋放的效果。

Jameela 以戊二醛交聯製備含藥物之幾丁聚醣微球，並以液態石蠟及石油醚混合液將其安定化，可製成長效型緩釋劑。Huang 等研究利用 spray 乾燥法做出 BTM-幾丁聚醣微球，此微球中還有加入明膠以及 ethylene oxide-proplene oxide 共聚物，利用掃描式電子顯微鏡觀察粒子形狀、大小及表面形態，發現明膠濃度的影響十分顯著，利用此方法做出來的微球，具有不錯的藥物穩定性、高載藥率、微球的表面帶有正電荷。

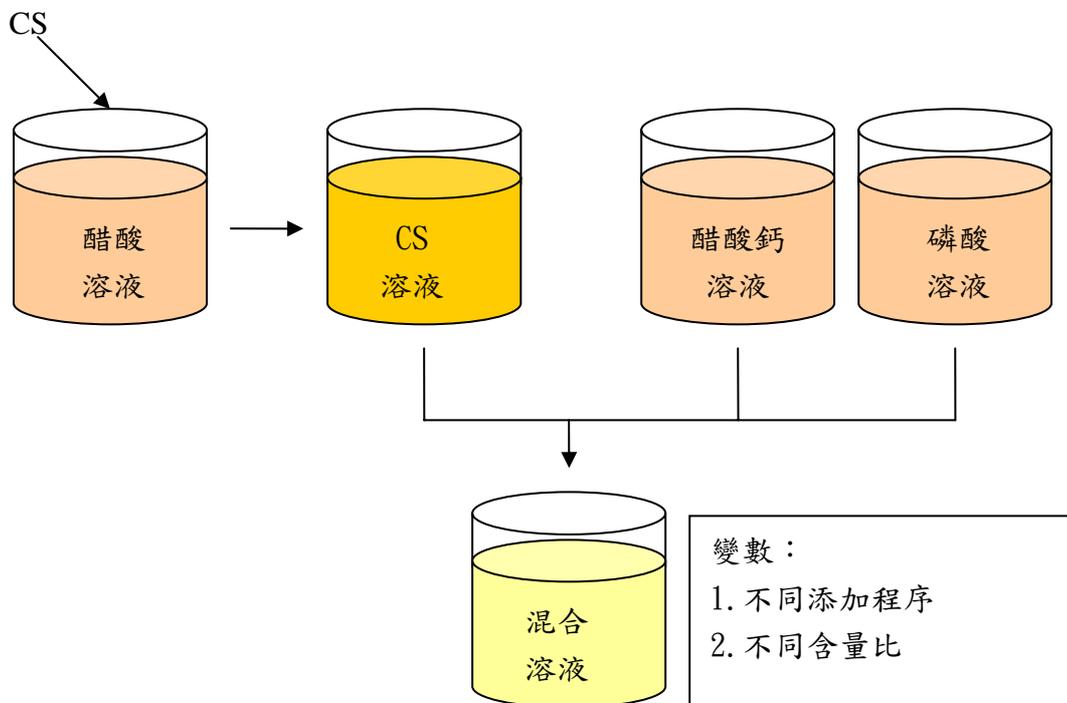
Qiu 等近一步研究利用多層多電解質將藥物 Ibuprofen(微結晶的大小為 5-40  $\mu\text{m}$ ) 包覆，控制釋放性質。具生物相容性的多電解質包括幾丁聚醣、dextran sulfate、carboxymethyl cellulose 以及 sodium alginate，利用其正負電荷的不同，可一層層包覆 Ibuprofen，包覆的厚度為 20-60nm，然後再利用 UV 來監測在不同緩衝液(pH 4 及 7.4)下的釋放曲線。發現藥物的釋放取決於結晶大小、多層多電解質膠囊厚度、核心材料的溶解度，並可藉由多醣體的包覆延長釋放時間。

Sivakumar 將氫氧基磷灰石細粒與幾丁聚醣兩者，以分散聚合技術做成微球，再吸附上抗生素，以 OM 及 SEM 觀察，其為球形且多孔，其大小為 18  $\mu\text{m}$ 。接著於試管中釋放，觀察其釋放曲線，發現近乎 zero-order 圖形，即藥物釋放含量與時間的關係，成正比且為一直線。此複合材料微球，可應用於骨科或牙科的填補物。

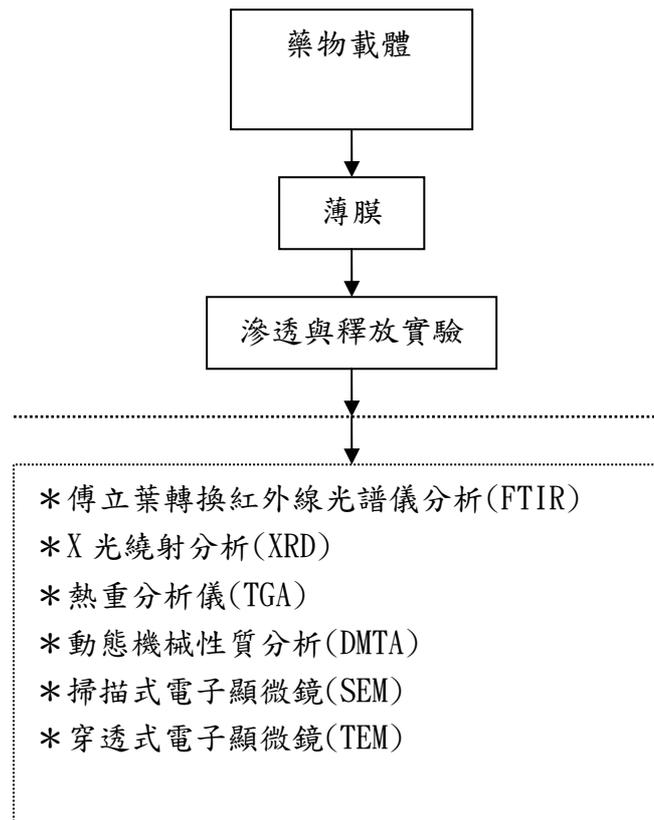
Takechi 將藥物包含於粉末相中，將材料浸漬於鹽水中，於固定時間間距測量其藥物釋放量，利用幾丁聚醣濃度的改變來控制藥物釋放速度，藥物釋放曲線在 24 小時內，隨著幾丁聚醣濃度的增加，可減緩其釋放速度。Zhang 以熱處理產生相分離的技術製造出微多孔幾丁聚醣支架，並以  $\beta$ -TCP 與磷酸鈣轉化玻璃補強，將此多孔材料設計為藥物釋放載體與骨骼再生支架，與純幾丁聚醣支架比較，一開始的藥物突放比較少，這是由於磷酸鈣結晶在支架上的影響，使得釋放可持續 3 周以上。

## 4、實驗方

### 4-1 實驗步驟



製程	溶液添加順序	簡稱
A	P→CS→Ca	IP
B	Ca→CS→P	IC
C	CDHA→CS	NI



#### 4-2 CS-CDHA 奈米複合材料的製備

將 CS 溶於 10% 醋酸水溶液中，配成濃度為 1% CS 溶液，經 2 小時攪拌均勻後，過濾雜質得 CS 溶液備用。CDHA 之鈣、磷前驅物為醋酸鈣、磷酸，將其濃度分別配製成 0.25M、0.167M 備用 (Ca/P 比 = 1.5)。CS-CDHA 奈米複合材料製備方法分為 in-situ 與 Non-in-situ 聚合。在 in-situ 聚合部分，可分為兩種程序，程序 A 中，先將 CS 溶液加入磷酸溶液中，最後加入醋酸鈣溶液；於程序 B，CS 溶液加入醋酸鈣溶液，最後才加入磷酸溶液。在 Non-in-situ 聚合之程序 C，則是先使醋酸鈣溶液、磷酸溶液反應合成 CDHA 後，再加入 CS 溶液。在這三種製備方法中，在每個添加溶液階段，都將 pH 值調至 9，最終 pH 值為 9 使其共沉，得到 CS-CDHA 奈米複合溶液。接著選擇程序 A 之製程，藉由改變不同 CS 溶液的含，得到不同比例之 CS-CDHA 奈米複合溶液。

#### 4-3 藥物擴散實驗

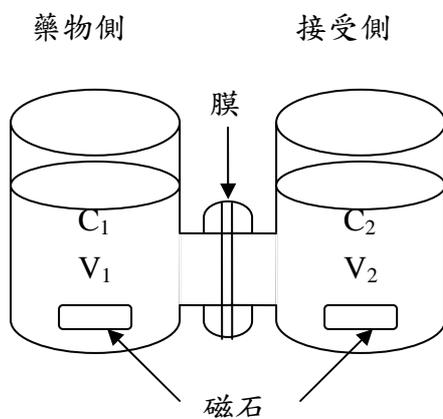
配製好上述溶液後，使其攪拌均勻，調整好其固/液比例，取溶液 25 克倒入直徑 9 公分塑膠培養皿中，平放於通風櫥櫃中使其水分揮發，待 7 天後，將薄膜撕下得之。

薄膜前處理：將製備好的薄膜浸置於 10% TPP 溶液中，待交聯 20

小時後取出，以去離子水清洗 3 次，將殘存的 TPP 溶液除去，靜置乾燥 12 小時後待用。

檢量線的量測：配製不同已知濃度的維他命 B12 溶液，測其吸收度之改變，以藥物濃度對吸收值作圖求得檢量線(線性回歸值  $R^2 > 0.99$ )。

將交聯後的薄膜架於擴散槽上(如圖示)，於兩邊的擴散槽分別加入 90 毫升的 PBS 溶液以及維他命 B12 溶液(0.2 毫克/毫升)，每隔 15 分鐘、連續測 6 小時，取出 PBS 溶液，以 UV 測量其吸收度，紀錄數值，利用檢量線換算為藥物濃度，繪圖得其擴散曲線，利用公式求其滲透係數。



$$\ln\left(\frac{C_{10}}{C_1 - C_2}\right) = \frac{2[DH]At}{\delta \cdot V}$$

A：膜的有效面積

D：有效擴散係數

H：分隔係數

V：兩側溶液體積

$C_1$  及  $C_2$ ：兩側濃度( $C_1$  為藥物側， $C_2$  為接受側)

$\delta$ ：膜厚

DH=P：滲透係數

#### 4-4 材料及釋放藥物分析

在本研究中使用 X 光繞射儀(X-Ray Diffraction)來鑑定分析結晶相結構、確認無機相 CDHA 之存在。使用的儀器為 MAC Science M18XHF，操作條件為：以銅靶(Cu,  $\lambda_{k\alpha 1} = 1.5405 \text{ \AA}$ )為 X 光源，操作電壓為 50 kV，操作電流為 100 mA，掃描範圍( $2\theta$ )由  $15^\circ$  至  $60^\circ$ ，掃描速率為  $4^\circ/\text{min}$ 。使用傅立葉轉換紅外線光譜儀(Fourier Transform

Infrared Spectrometer)判斷複合材料有何官能基，取 100mg KBr 與 1-2mg 樣品混合壓成錠，掃描範圍為 400 至 4000  $\text{cm}^{-1}$ ，解析度為 4.00  $\text{cm}^{-1}$ ，掃描次數為 32 次。利用熱重分析儀(Thermogravimetry Analysis)判斷熱降解溫度、反應相，使用儀器為 TA 2950，操作條件為：先於 30°C 持溫 1 分鐘後，以 10°C/min 的升溫速率至 900°C 為止。利用動態機械性質分析儀器(Dynamic mechanical analysis)分析玻璃轉換溫度、非晶區分子運動情況，使用儀器為 TA Q-800，操作條件為：溫度範圍為-130 至 250°C，升溫速率為 3°C/min，頻率為 1Hz。藉由場發射掃描式電子顯微鏡(Field emission scanning electron microscope, FESEM)觀察試片表面以及截面狀況，實驗儀器為 Hitach S-4000，操作電壓為 25 keV，操作電流為 10  $\mu\text{A}$ 。藉由 Philips Tecnai 穿透式電子顯微鏡(Transmission electron microscope)觀測 CDHA 之分散情況以及粒徑大小，操作電壓為 200 keV。

## 5、結果與討論

### 5-1 幾丁聚醣及 CDHA 複合材料製程研究

將幾丁聚醣及 CDHA 混摻，將幾丁聚醣及 CDHA 固定含量為 9:1，以不同添加順序當作製程變數，並製作成薄膜，探討其物理性質與藥物滲透之速度並比較其差異。

圖 5-1 為 Ca/P 前驅物在不同添加順序下，所合成的 CDHA-CS 複合材料的 XRD 繞射圖形，可由圖 5-1 中看出純幾丁聚醣及 CDHA 於 XRD 的相，純幾丁聚醣於  $2\theta$  在  $20^\circ$  附近有一寬廣的繞射峰，此峰為(102)、(022)、(200)、(040)、(220)、(140)繞射平面組成，CDHA 於  $26^\circ$ 、 $28^\circ$ 、 $32^\circ$ 、 $40^\circ$ 、 $47^\circ$ 、 $50^\circ$  等角度有繞射峰，分別為(002)、(210)、(211)(112)(300)、(310)、(222)、(213)組成。並且可以看出，在不同的添加順序中，都有 CDHA 相形成，其結晶性或粒度大小都差異不大，但由於有機含量佔的比例較多，因此在圖中有機相的強度較高，並且因為有機相的存在而導致結晶性受到影響，與無添加幾丁聚醣的 CDHA 比較，複合材料中 CDHA 相的相對強度都變小。

圖 5-2 為 Ca/P 前驅物在不同添加順序下，所合成的 CDHA-CS 複合材料的 FTIR 圖譜，由 FTIR 可看出，波數位置於  $1652\text{ cm}^{-1}$  (amide I, C-O)、 $1580\text{ cm}^{-1}$  (-NH<sub>2</sub> bending)、 $2990\text{ cm}^{-1}$  (methylene, -CH<sub>2</sub>)等為幾丁聚醣的官能基特徵峰，而  $1100\text{ cm}^{-1}$  及  $1040\text{ cm}^{-1}$ 、 $600\text{ cm}^{-1}$ 、 $3450\text{ cm}^{-1}$  為 CDHA 中 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>與 OH 的官能基。且由圖 5-2 觀察，在三種製程中，均有 CDHA 的官能基存在，與純幾丁聚醣、CDHA 的圖比較，發現複合材料在  $1580\text{ cm}^{-1}$  以及  $1100\text{ cm}^{-1}$  部分都有強度上的降低， $1580\text{ cm}^{-1}$  為幾丁聚醣的官能基-NH<sub>2</sub> bending，而  $1100\text{ cm}^{-1}$  則為 CDHA 的磷酸根基團(-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)，推測是由於幾丁聚醣中的胺基(-NH<sub>2</sub>)在溶液調到酸性時，會變成帶正電的(-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)，接著與 CDHA 中的磷酸根(-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)反應或是物理性的相吸，因此造成強度上的減弱。而製程 A 與其他兩製程比較其相對強度，在於此部分的差異，推測是由於在製程 A 中，幾丁聚醣先與磷酸溶液相混，因此幾丁聚醣中的胺基(-NH<sub>2</sub>)與磷酸根離子(-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)的反應或是物理性相吸，與其他兩製程比較起來，反應較為完全，因此造成相對強度上的差異。

由圖 5-3 探討 TGA 重量損失分析，由於 CDHA 為無機陶瓷材料，與複合材料比較，其 TGA 之重量損失低於 5%，而幾丁聚醣的重量損失分為兩個階段，從 100 開始至 300 為連續降解的第一階段，而第二階段則為 300-600。在第一階段中，推測應該是幾丁聚醣分子間氫鍵破壞導致重量損失。比較交鏈前後的熱重分析圖(見圖 5-3 及圖 5-4)，發現經由 TPP 離子交鏈後的薄膜，重量損失減少，尤其是純幾丁聚醣薄膜多 10% 殘留量，這是由於 TPP 溶液中磷酸根離子與幾

丁聚醣中胺基反應，使得其原本可降解的分子，變為比較難降解。在未交鏈的三種製程薄膜中，都可觀察到其第一階段的連續降解速度變為緩慢，推測這三種製程均提供了磷酸根離子，使其有交鏈的效果，導致連續降解的速度被減緩，使得 TGA 圖形與交鏈後的純幾丁聚醣薄膜類似。經由 TPP 交鏈後的薄膜中，主要分成兩組，製程 A 與幾丁聚醣薄膜一組、製程 B 與 C 一組，關於這點，推測是由於 CDHA 的存在，導致薄膜在 TPP 溶液中，磷酸根與幾丁聚醣的交鏈程度受影響，而在製程 A 的部分，由於是先加入磷酸溶液與幾丁聚醣混合，因此已經先有磷酸根離子與幾丁聚醣接觸，因此在製程 A 中 CDHA 的影響比製程 B 及 C 來的小，因此製程 A 與幾丁聚醣薄膜較為相近。由上述結果得知，製程變化在於 TGA 圖形中，其實看不出很大的差異，此部分可由後續 DMTA 實驗看出其差異性。

在薄膜滲透方面，由滲透曲線與滲透係數(DH)得知(見圖 5-5 及圖 5-6)，其滲透速度快慢分別為製程 B、製程 C、幾丁聚醣、製程 A，由這個結果得知製程 A 之 DH 值最小，由於此製程為磷酸溶液先與幾丁聚醣相混，推測可能是以下結果影響：1、在此製程中，CDHA 與幾丁聚醣的界面較為良好，導致 DH 值下降；2、因為交鏈程度較高，導致薄膜較為緻密，不易膨潤，因而 DH 值下降；3、CDHA 與幾丁聚醣較為均勻混合、分散，形成較為緻密的微結構，進而影響到其滲透速率的快慢。此部分還有待 TEM 觀測證明。而其他兩個製程的 DH 值比純幾丁聚醣還差，雖然由 TGA 得知其交鏈程度與純幾丁聚醣差不多，但是可能是由於 CDHA 在幾丁聚醣中分散性比較不好，導致 DH 值上升。除此之外，推測 CDHA 與幾丁聚醣之間的界面比較差。

圖 5-7 及圖 5-8 為複合材料之 TEM、SEM 觀測結果。在 TEM 中，可以觀察在複合材料中之 CDHA 為針狀結構，其長、寬約為 80nm、20nm；此外，由 TEM 可觀測到在製程 A 中材料之分散性優於製程 B、C，此部分與滲透結果之推測符合。圖 5-8 為複合材料薄膜經滲透實驗後之截面狀況，可以觀察到在 CS 薄膜與製程 A 薄膜之截面比較緻密，而製程 B、C 薄膜之截面則較不緻密，其孔隙也比較大。

## 5-2 有機/無機含量變化對藥物滲透、釋放速度之影響

在製程變化的實驗中，製程 A 之滲透係數慢於製程 B、C，因此在此採用製程 A 之添加順序，改變兩材料混摻之比例，以探討有機/無機含量的影響，並同樣製作成薄膜，探討其物理性質與藥物滲透、釋放之速度。

從圖 5-9 的 XRD 圖中，可明顯看到隨著幾丁聚醣含量的增加，導致 CDHA 結晶強度越來越不明顯，在幾丁聚醣含量高達 90% 時，

有機相的 peak 已明顯比無機相還要高，但仍有 CDHA 無機相的存在。

由圖 5-10 的 FTIR 中，隨著幾丁聚醣含量的增加，可清楚於  $2990\text{ cm}^{-1}$  (methylene,  $-\text{CH}_2$ )、 $1580\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{NH}_2$  bending) 位置，看到其 peak 越來越明顯。可以從  $1580\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{NH}_2$  bending) 此處判斷，隨著 CDHA 含量的增加，官能基的消長更為明顯，其交鏈程度越來越好。

由圖 5-11 及圖 5-12 的 TGA 圖中，觀察出兩點：第一、隨著幾丁聚醣的增加，重量損失隨之增加；第二、隨著 CDHA 含量的提高，減緩了幾丁聚醣的第一段連續降解現象。

在此部分的滲透實驗中，供給實驗所需的膜，直徑必須大於  $2.5\text{ cm}$ ，但由於 CDHA 含量過高時，無法成為一片完整無缺的膜，因此在此部分的數據中，缺少 CS 含量 30% 以及 10% 的兩筆數據。由圖 5-13、圖 5-14 觀察得知，其滲透係數高低依序為 CS50%、CS100%、CS70%、CS90%，推測由於 CDHA 中磷酸根對於幾丁聚醣有交鏈的效果，因此導致其 DH 值降低，但是由於 CDHA 含量的提高，會影響到其分散性與孔隙度，即薄膜的緻密性，因此在有 CDHA 含量的三筆數值中，隨著 CDHA 含量的增加，導致孔隙度的提高，影響到其滲透係數隨之上升。

圖 5-15 為固定添加順序，不同有機/無機含量比之 SEM。在 SEM 中可以觀察到，隨著幾丁聚醣含量減少，造成的孔隙會增多、增大，與上述滲透實驗之推測結果相符合，隨著孔隙變多、變大，藥物滲透速率也會變快，導致滲透係數上升。

## 6、結論與建議

1. 三種製程中，以製程 A(磷酸溶液與幾丁聚醣先混合，最後加入醋酸鈣溶液)之 DH 最低，可能的因素有交聯程度高、CDHA 與 CS 界面最好、粒子小且均勻分散，可由 TGA、FTIR、DMTA 來證明
2. 在製程 A 中，隨著有機/無機比例的不同，滲透係數高低依序為幾丁聚醣 50%、100%、70%、90%，隨著 CDHA 含量提高使得交鏈程度上升，導致其 DH 值降低，但是由於 CDHA 含量提高，也會導致孔隙度的提高，影響到其滲透係數隨之上升，在兩個因素的共同影響下，幾丁聚醣含量 90%時，滲透係數最低。
3. in-situ 製程中，CDHA 與 CS 基材的反應，可作為成核起始點，對於分散性有正面幫助，導致滲透係數下降，強度上升。
4. 奈米粒子與有機基材之界面反應，其對分子運動的影響，會對滲透產生重大的影響，而扮演界面橋樑的高分子電解質，含量有一定數值，過多過少都不行。
5. 發展出可大於 90%有效包附標地活性體、藥物的製程方法。
6. 研究包附體 in-vitro 藥物釋放模式和藥物動力學。

## 參考文獻

- [1] The World's No.1 Science & Technology News Service, Nanotechnology may create new organs, NewScientist.com news service, 8 July 2003.
- [2] Liu DM, Troczynski T, Tseng WJ. Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite : process development. *Biomaterials* 2001;22:1721-30.
- [3] Q. Liu, J. R. de Wijn, and C. A. van Blitterswijk, “ Nono-apatite/polymer composites: characteristics,” *Biomaterials*, 18 (1997) 1263-1270.
- [4]. L. Liu, E. B. Hunziker, N. X. Randell, K. de Groot, and P. Layrolle, Proteins incorporated into biomimetically prepared calcium phosphate coatings modulate their mechanical strength and dissolution rate, *Biomaterials*; 2003;24: 65-70.
- [5] E. Gentleman, A. N. Lay, D. A. Dickerson, E. A. Nauman, G. A. Livesay and K. C. Dee, Mechanical characterization of collagen fibers and scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*;2003;24:3805-13.
- [6] Y. Zhang, and M. Zhang, “ Calcium phosphate/chitosan composite scaffolds for controlled in vitro antibiotic drug release,” *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 378-385.
- [7] Liu DM, Troczynski T, Tseng WJ. Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development. *Biomaterials* 2001;22[11]:1721-30.
- [8] Yubao L, Klein CPAT, De Wijn J, Van De Meer S, De Groot K. Shape Change and Phase Transition of Needle-like Non-Stoichiometric apatite crystals. *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 1994;5:263-68.
- [9] Yubao L, De Groot K, De Wijn J, Klein CPAT, Van De Meer S. Morphology and Composition of Nanograde Calcium Phosphate Needle-like Crystals Formed by

- simple Hydrothermal Treatment. *J Mater Sci: Mater in Medicine* 1994;5:326-31.
- [10] Lu HB, Ma CL, Cui H, Zhou LF, Wang RZ, Cui FZ. Controlled crystallization of calcium phosphate under stearic acid monolayers. *J Crystal Growth* 1995;155: 120-25.
- [11] N. Kossoveky, A. Gelman, E. E. Sponsler, H. J. Hnatyszyn, S. Rajguru, M. Torres, M. Pham, J. Crowder, J. Zemanovich, A. Chung and R. Shah. Surface-modified nanocrystalline ceramics for drug delivery applications, *Biomaterials*, 1994;15:1201.
- [12] Knowles JC, Calluct S, Georgiou G. Characterisation of the rheological properties and zeta potential of a range of hydroxyapatite powders. *Biomaterials*, 2000;21:1387-92.
- [13] Kwon IK, Park KD, Choi SW, Lee SH, Lee EB, Na JS, Kim SH, Kim YH. "Fibroblast culture on surface-modified poly(glycolide-co-epsilon-caprolactone) scaffold for soft tissue regeneration," *J. Biomaterials Science-polymer*, 12 (10): 1147-1160 2001.
- [14] Lenza RFS, Vasconcelos WL, Jones JR, Hench LL,. "Surface-modified 3D scaffolds for tissue engineering," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*13 (9): 837-842 SEP 2002
- [15] D. G. Shchukin, G. B. Sukhorukov, and H. Mohwald, Biomimetic fabrication of nanoengineered hydroxyapatite/polyelectrolyte composite shell, *Chem. Mater.* 2003,15, 3947-50.
- [16] Sz-Chian Liou, **San-Yuan Chen**, Hsin-Yi Lee and Jong-Shing Bow, "Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders, *Biomaterials*, 25 (2004) 189

- [17] Sz-Chian Liou and **San-Yuan Chen**, "Transformation mechanism of different chemically precipitated apatitic precursors into  $\beta$ -tricalcium phosphate upon calcinations," *Biomaterials*, **23** (2002) 4541.
- [18] Sz-Chian Liou, **San-Yuan Chen** and Dean-Mo Liu, "Synthesis and Characterization of Needlelike Apatitic nanocomposite with controlled aspect ratios," *Biomaterials*, **24** (2003) 3981.
- [19] Sz-Chian Liou, San-Yuan Chen, Hsin-Yi Lee and Jong-Shing Bow, "Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders, *Biomaterials*, **25** (2004) 189.
- [20] S. R. Jameela, A. Jayakrishnan, Glutaraldehyde cross-linked chitosan microspheres as a long acting biodegradable drug delivery vehicle : studies on the in vitro degradation of microspheres in rat muscle, *Biomaterials* **16** (1995)769.
- [21] X. Qiu, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, Studies on the drug release properties of polysaccharide multilayers encapsulated ibuprofen microparticles, *Langmuir* **17** (2001) 5375-5380.
- [22] A. Zanina, A. Vilesov, T. Budtova, Shear-induced solvent release from gel particles: application to drug-delivery systems, *International Journal of Pharmaceutics* **242** (2002) 137-146.
- [23] C. Wang, C. J. Lin, Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite /chitosan nano-composite for use in biomedical materials, *Materials Letters* **57** (2002) 858-861.
- [24] I. Yamaguchi, K. Tokuchi, H. Fukuzaki, Y. Koyama, K. Takakuda, H. Monma, J. Tanaka, Preparation and microstructure analysis of chitosan/hydroxyapatite nanocomposites, *Journal of Biomedical Materials Research* **55** (2001) 20-27.
- [25] **M. Sivakumar, I. Manjubala, K. P. Rao**, Preparation, characterization and in-vitro

- release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-chitosan composite microspheres, *Carbohydrate Polymers* 49 (2002) 281-288.
- [26] Y. Zhang, M. Q. Zhang, Calcium phosphate/chitosan composite scaffolds for controlled in vitro antibiotic drug release, *Journal of Biomedical Materials Research* 62 (2002) 378-386.
- [27] J. S. Ahn, H. K. Choi, M. K. Chun, J. M. Ryu, J. H. Jung, Y. U. Kim, C. S. Cho, Release of triamcinolone acetonide from mucoadhesive polymer composed of chitosan and poly (acrylic acid) in vitro, *Biomaterials* 23 (2002) 1411-1416.
- [28] Y. Hu, X. Jiang, Y. Ding, H. Ge, Y. Yuan, C. Yang, Synthesis and characterization of chitosan-poly(acrylic acid) nanoparticles, *Biomaterials* 23 (2002) 3193-3201.

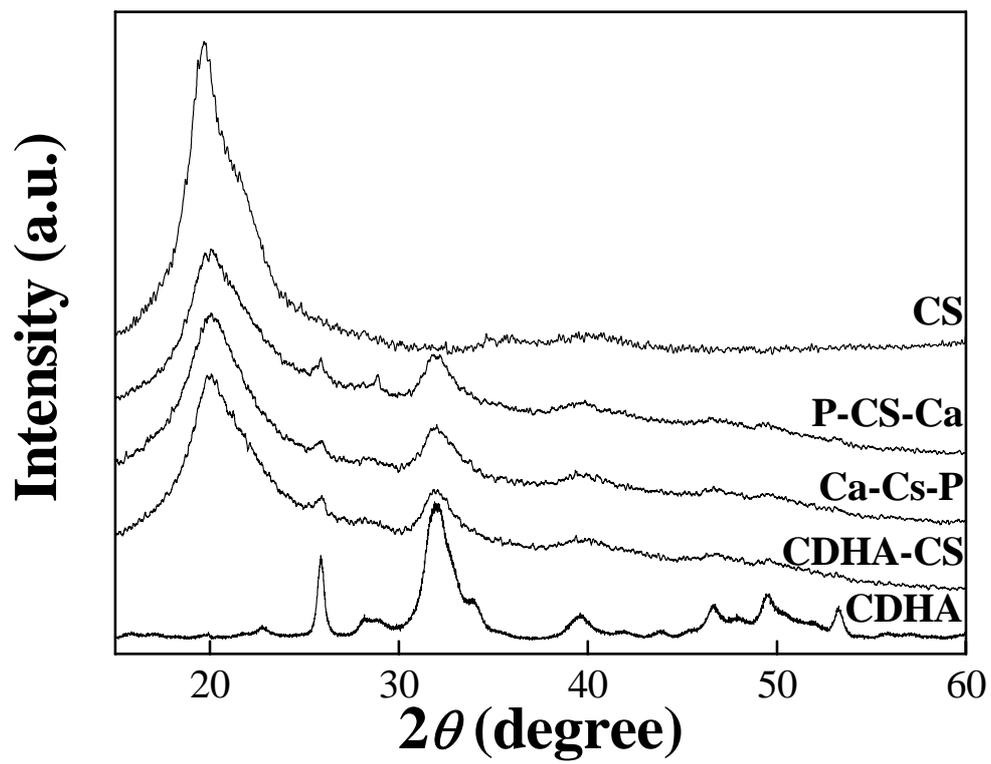


圖 5-1. 固定有機/無機含量比，改變添加順序之 XRD

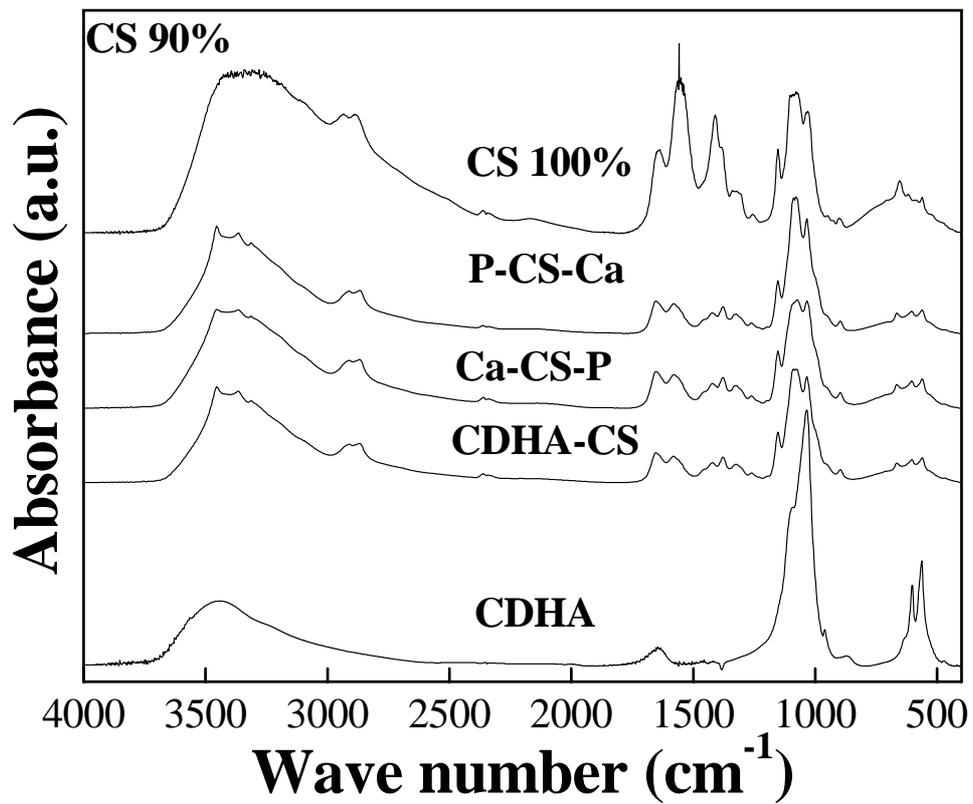


圖 5-2. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之薄膜，未經

TPP 交聯之 FTIR

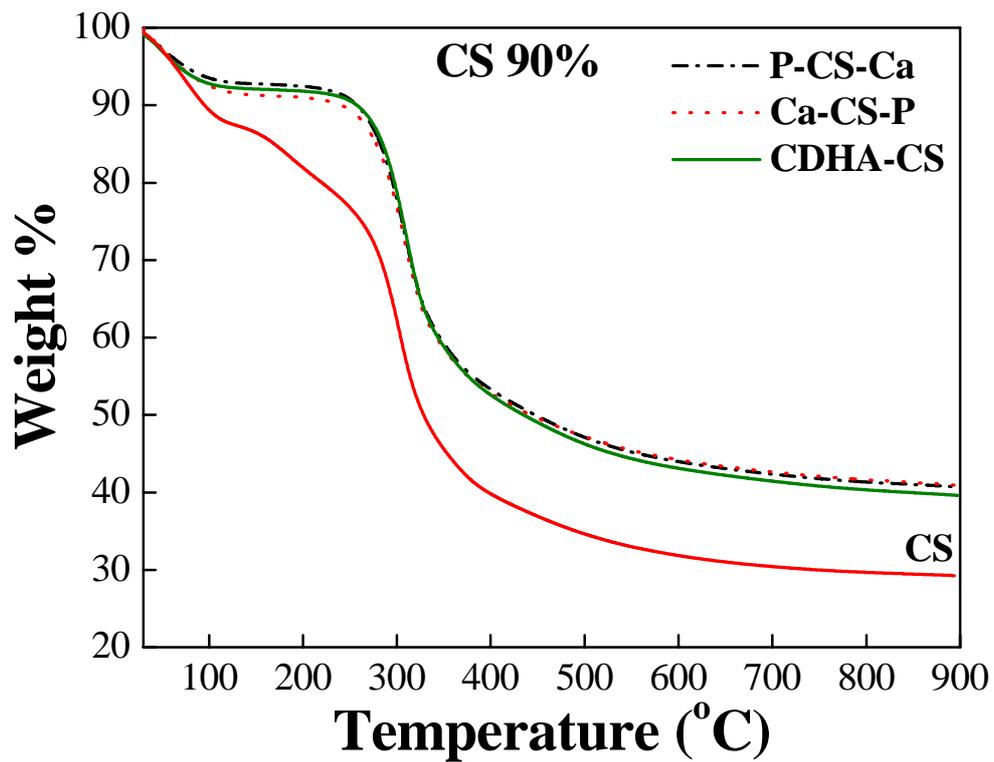


圖 5-3. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之薄膜，未經 TPP 交聯之 TGA

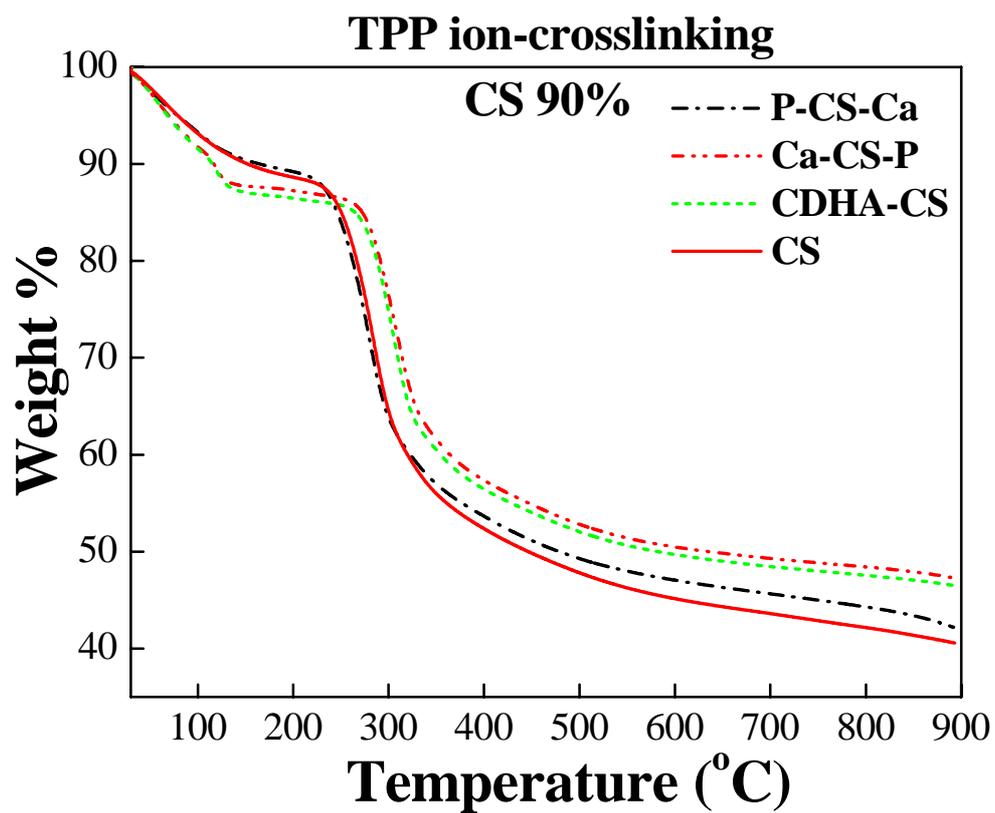


圖 5-4. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之薄膜，經過

TPP 交聯之 TGA

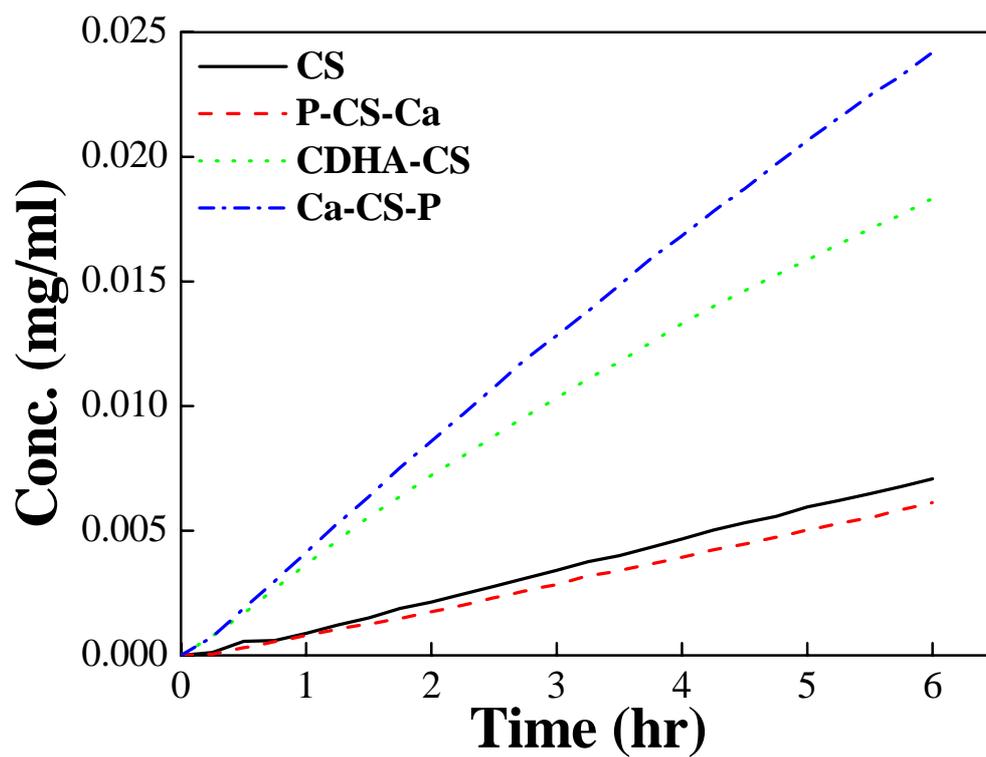


圖 5-5. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之薄膜，經過  
TPP 交聯後之滲透曲線

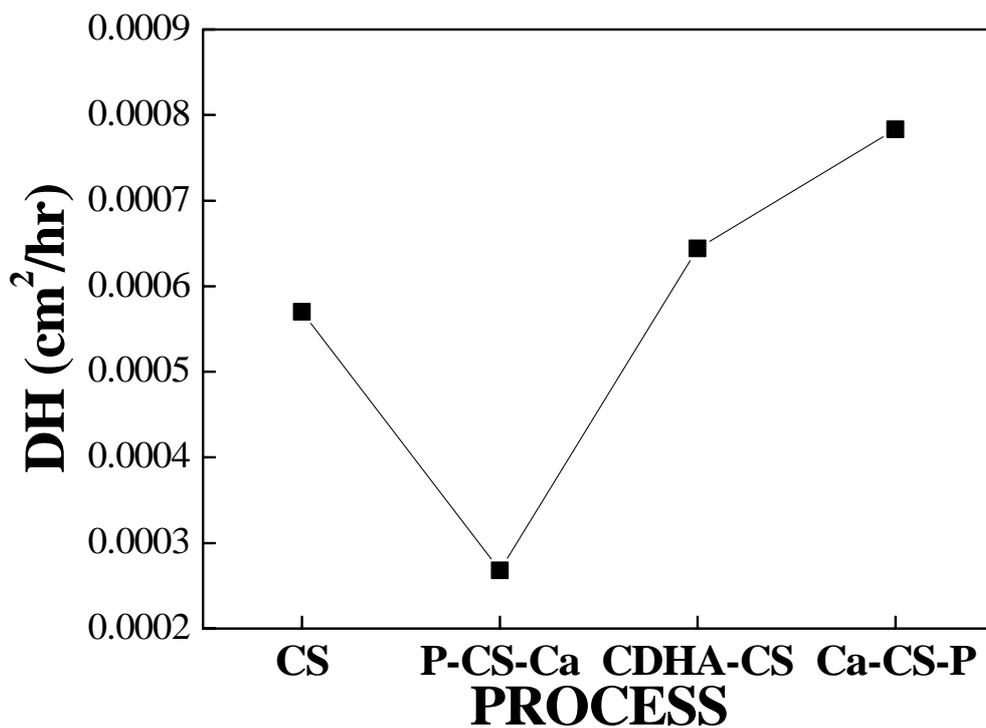
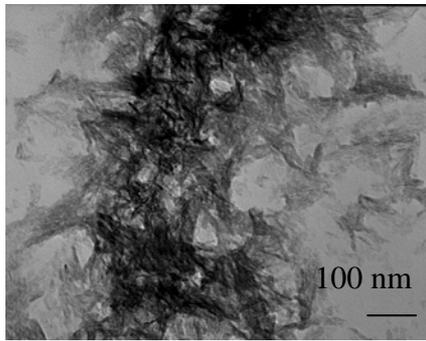
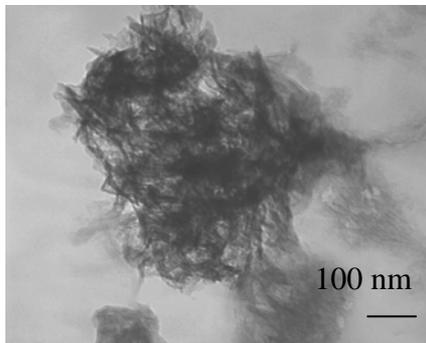


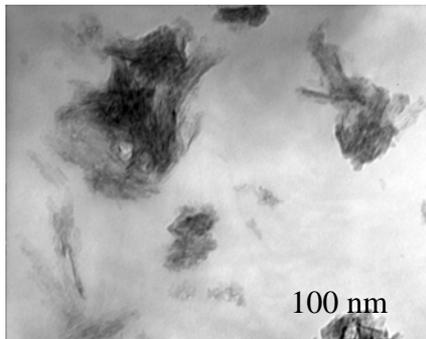
圖 5-6. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之薄膜，經過  
TPP 交聯後之滲透係數



**P-CS-Ca**

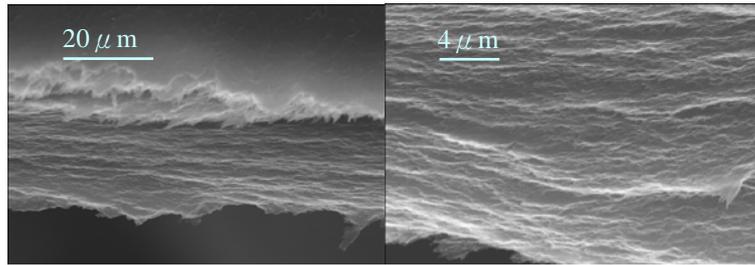


**Ca-CS-P**

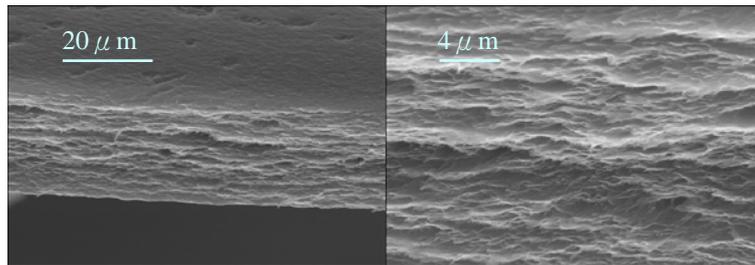


**CDHA-CS**

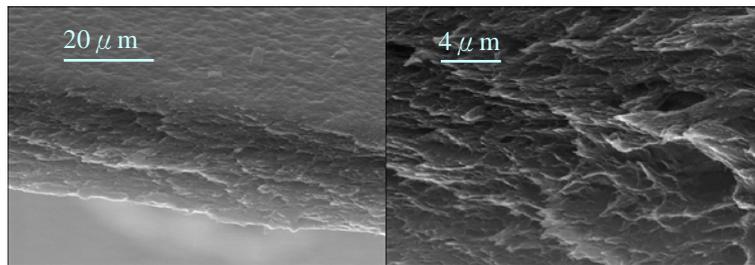
圖 5-7. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之 TEM



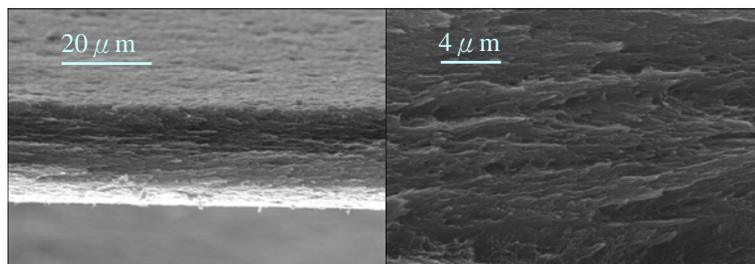
**CS**



**P-CS-Ca**



**Ca-CS-P**



**CDHA-CS**

圖 5-8. 固定有機/無機含量比，不同添加順序之 SEM

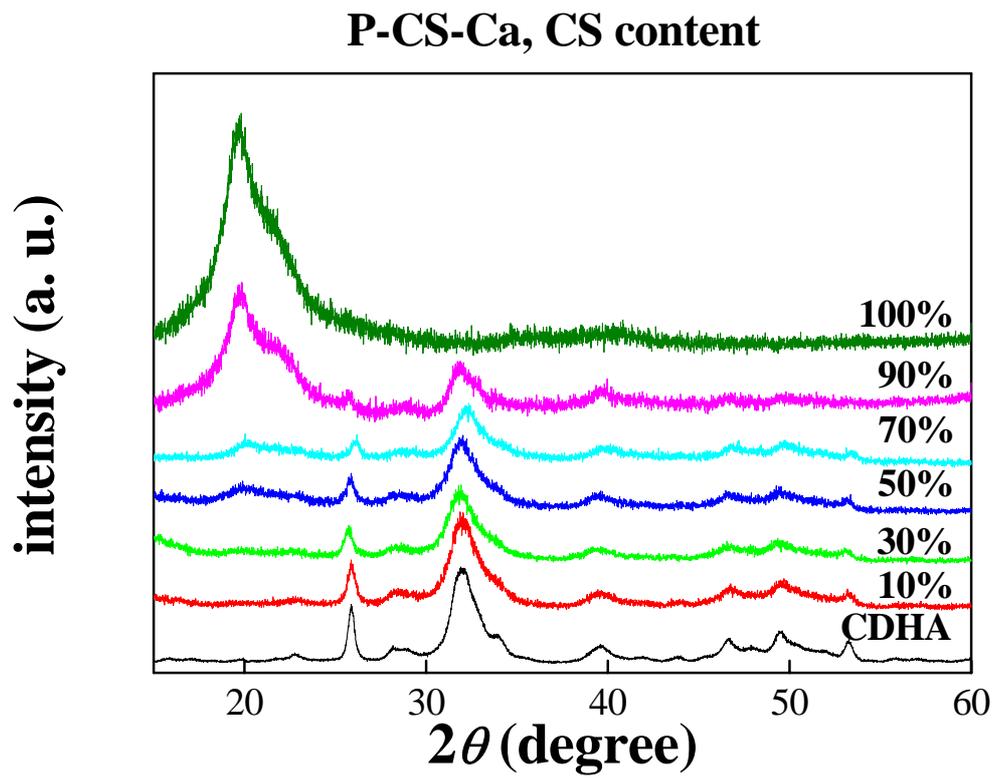


圖 5-9. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之 XRD

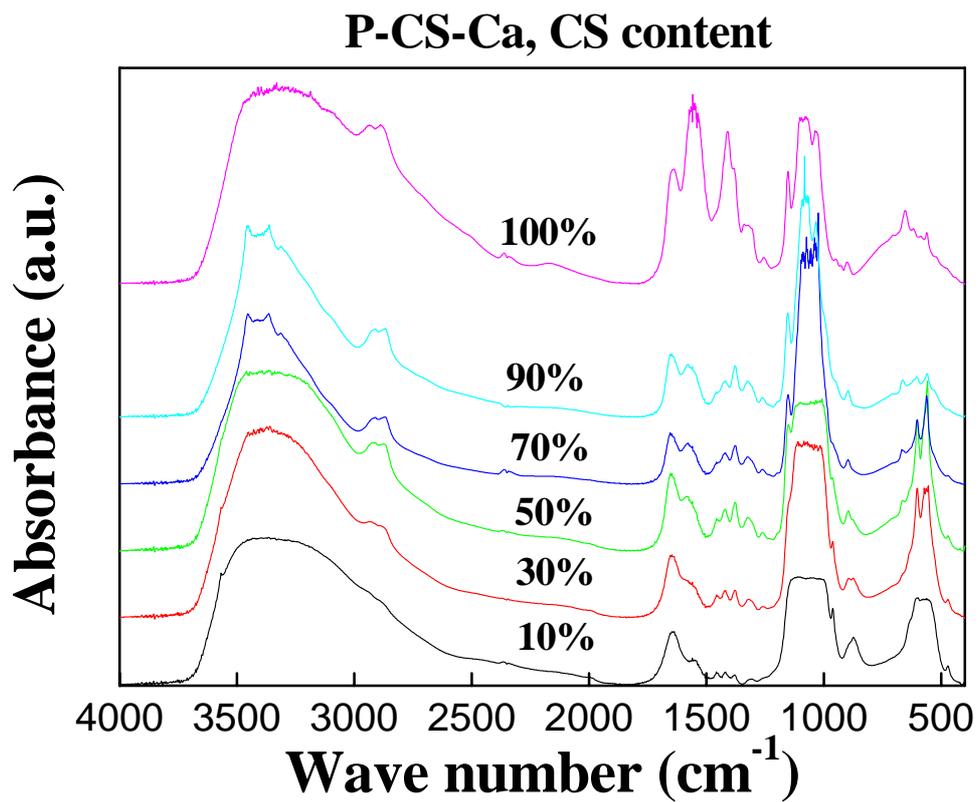


圖 5-10. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之薄膜，未經

TPP 交聯之 FTIR

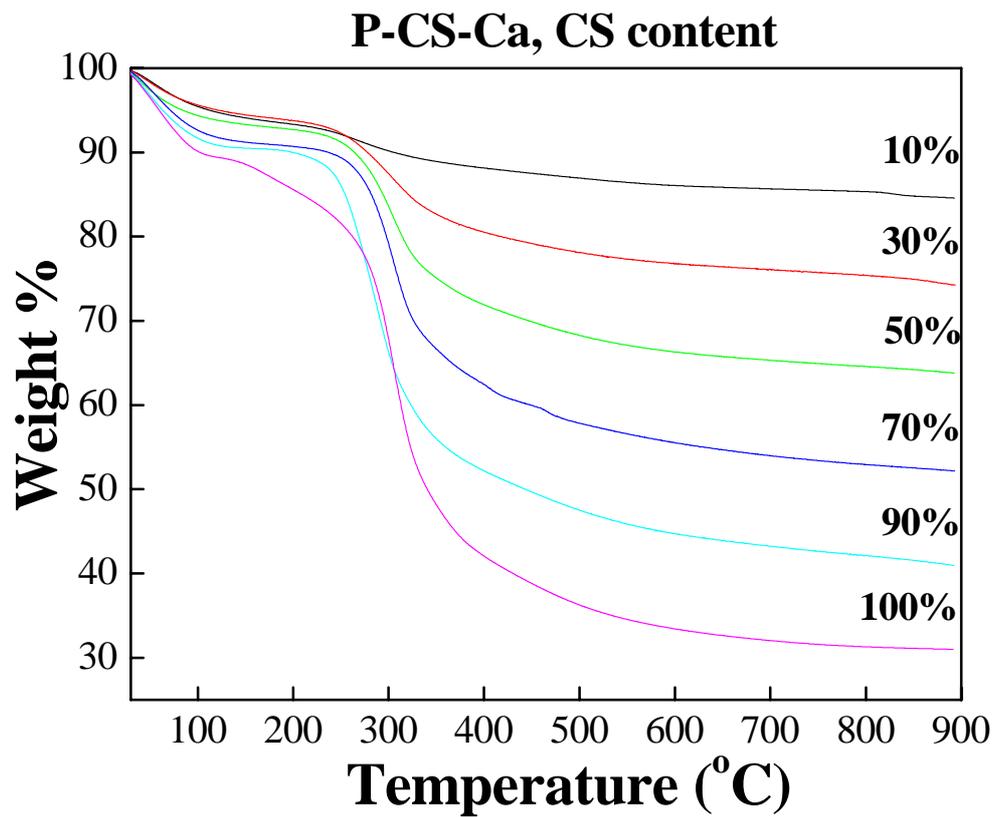


圖 5-11. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之薄膜，未經過 TPP 交聯之 TGA

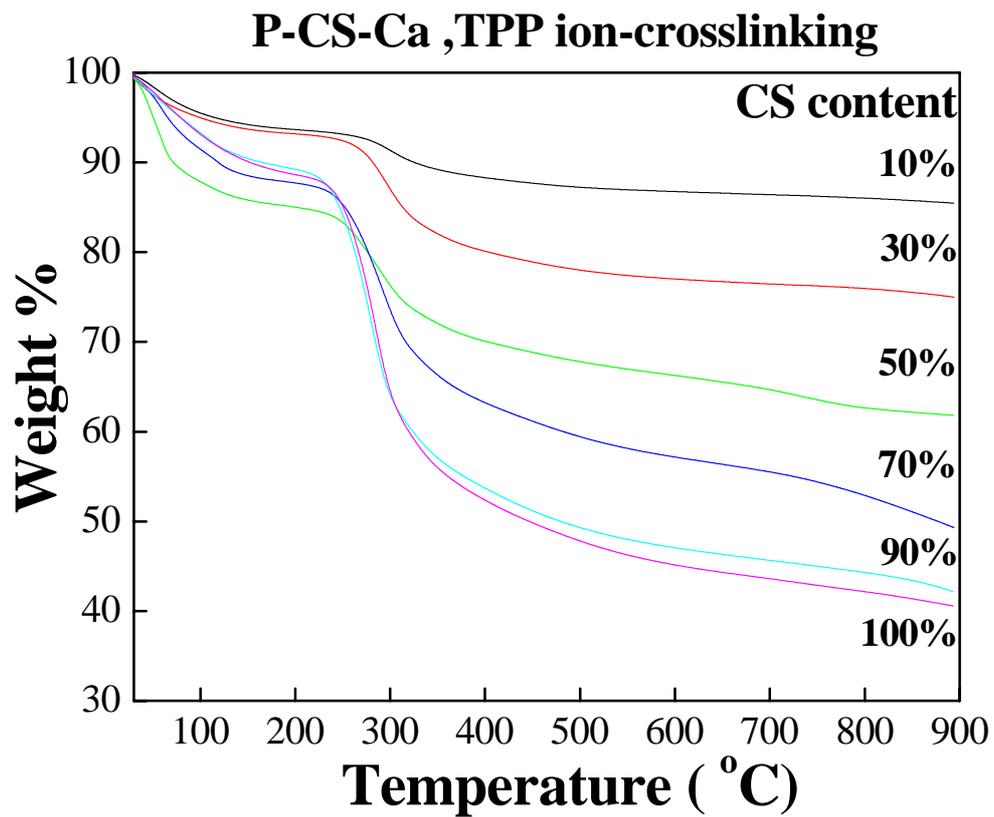


圖 5-12. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之薄膜，經過

TPP 交聯之 TGA

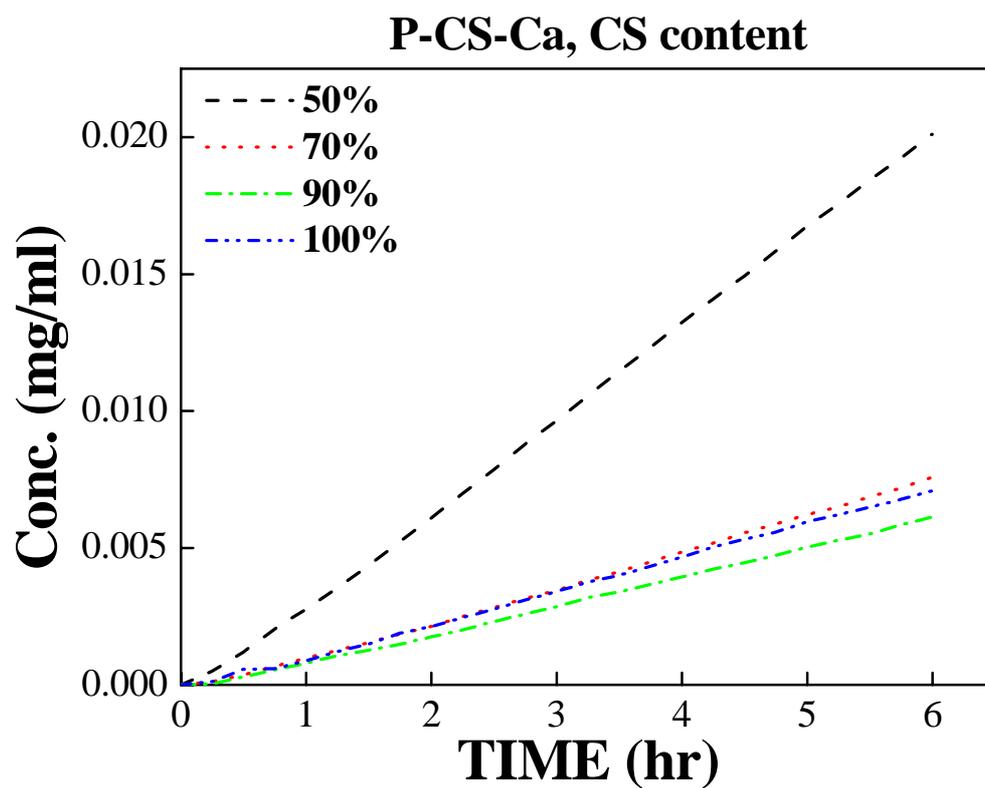


圖 5-13. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之薄膜，經過  
TPP 交聯後之滲透曲線

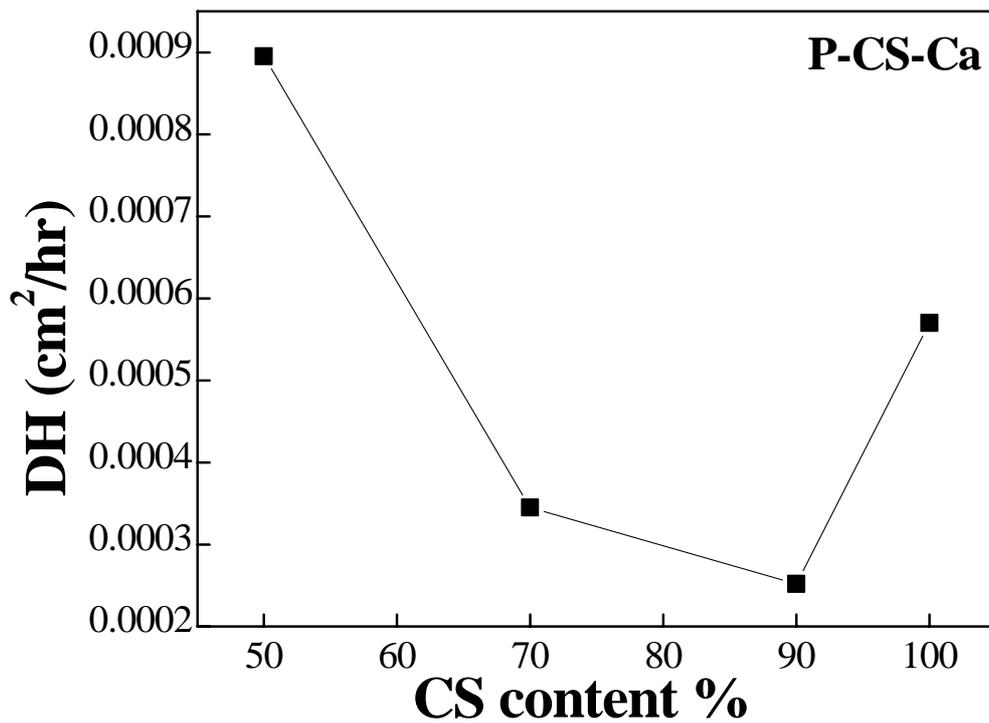
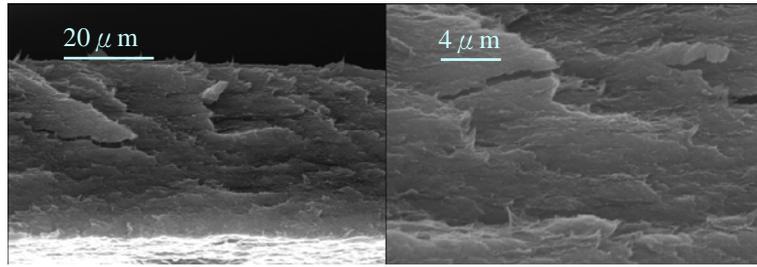
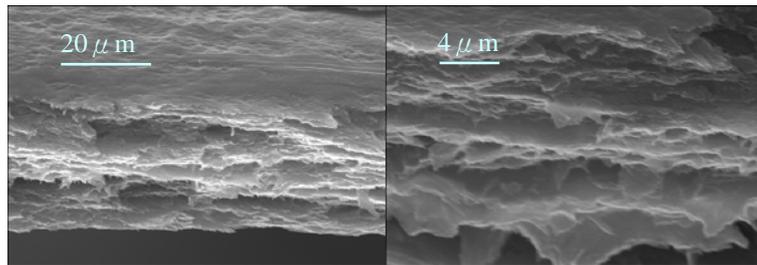


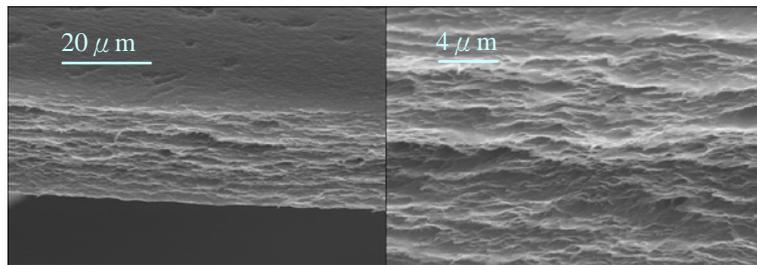
圖 5-14. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之薄膜，經過  
TPP 交聯後之滲透係數



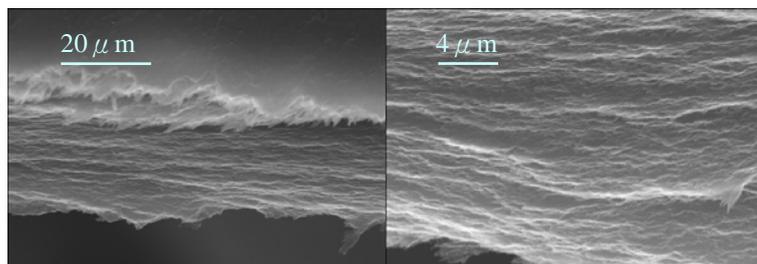
**CS50%**



**CS70%**



**CS90%**



**CS**

圖 5-15. 固定添加順序，不同有機/無機含量比之 SEM