ƒ ‹F | Œfia‹ ˙'e›ß• |–M^D‹ ª¤s›p e ƒ¤"G‡ł§i

˘F" »Eƒh` ` /»E¤¯»˜/«D·„«‹`O»˜¶tƒb† ´· ⁄ ƒA¥˝§ ‡N ⁄§ ‡¥¸¶} o

›p e^ §¡G §O«‹›p e

›p e‰ ¸s„¡GNSC94-2314-B-038-029-

ıƒ · ¶¡¡G94 ƒ~08⁄°01⁄ ƒ 95 ƒ~07⁄°31⁄Ø

ıƒ ‡ ƒ ¡G» O ¥´ ˙⁄j ˙⁄ œ ˙¤t

›p e¥ D œ⁄¡HG§ ı ‡·›

ƒ ƒP¥ D œ⁄¡HG• ¤ ¥'

›p e »P⁄H›ß¡G‡ fl « ⁄ ⁄ ¡ B , ¶ i ' ¡B¤fi¥ ¶†¡B¶ ‰

‡ł§i^ «‹¡G" °†‡ł§i

‡ B † zŁ¡fG¡¥»›p e¥ ł‰¶}‹ ¸d

⁄⁄ ¥` Œ 95 ƒ~10⁄°26⁄Ø

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 ■ 成 果 報 告 □期中進度報告

聚乳酸/靈芝幾丁聚醣/非晶型磷酸鈣在組織導引再生技術之應用開發

計畫類別：■ 個別型計畫　□ 整合型計畫
計畫編號：NSC 94 － 2314 － B － 038 － 029 －
執行期間： 94 年 8 月 1 日至 95 年 7 月 31 日

計畫主持人：李勝揚 教授
計畫參與人：楊正昌、陳建中、詹進忠、車立雯、黃濬賢

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：■精簡報告 □完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：
□赴國外出差或研習心得報告一份
□赴大陸地區出差或研習心得報告一份
□出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
□國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢
□涉及專利或其他智慧財產權，□一年□二年後可公開查詢

執行單位：台北醫學大學/牙醫學研究所

中 華 民 國 95 年 10 月 10 日

聚乳酸/靈芝幾丁聚醣/非晶型磷酸鈣在組織導引再生技術之應用開發

李勝揚

台北醫學大學/口腔醫學院/牙醫學研究所

計畫期間：94 年 08 月 01 日至 95 年 07 月 31 日

計畫編號：NSC 94-2314-B-038-029-

中文摘要

本計畫依據上年度之可注射式聚乳酸組織導引再生阻隔材(GTR barrier)溶液系統之研究成果，在研發構想上希望藉由導入靈芝多醣體之抑菌、止血與加速癒合機能，提供長時間有效地降低發炎反應以縮短療程，並結合非晶型磷酸鈣之添加促進骨細胞之再生，提昇可注射式 GTR Barrier 之機能性與操作便利性，發展出使用便利性高之新型複合機能 PLA/Chitosan/ACP GTR Barrier 產品，本年之工作重點在分別確定靈芝聚多醣與非晶型磷酸鈣之製程與產物物化特性分析，探討靈芝聚多醣/聚乳酸/非晶型磷酸鈣 GTR barrier 之配方設計、流變性質評估。

關鍵詞：牙周病、組織導引再生術、靈芝幾丁聚醣、非晶型磷酸鈣

Abstract

Our goal is to develop an injectable GTR barrier system with improved functionality and better manageability to meet clinical requirements and to reduce the healing time. Ganoderma polysaccharide is chosen for its haemostatic and wound healing acceleration properties and amorphous calcium phosphate (ACP) is included for promoting the bone regeneration. The major task of this year is to confirm the processes for the preparation of Ganoderma Polysaccharide and ACP. The GTR barrier formulation studies of Ganoderma polysaccharide/PLA/ACP solution will be conducted. The rheological properties as well as the biocompatibility of this GTR barrier will be studied. Updated information concerning the factors that influence the success of GTR membranes and the further research directions will be obtained.

Keywords：periodontal diseases, GTR barrier, ganoderma polysaccharide, amorphous calcium phosphate (ACP)

一、前言與研究目的

根據統計，三十五歲以上的成年人罹患程度不等的牙周疾病的比例高達 80%，牙周病的成因是來自牙菌斑及牙結石，其內包含很多細菌導致牙齦發炎、紅腫，若未及時治療則細菌會引起慢性發炎反應，導致牙齒周圍支持組織，包含齒槽骨及牙周組織之吸收破壞。組織引導再生(Guided Tissue Regeneration, GTR)技術本質上是將膜片植入患處，藉以阻隔生長較快之上皮細胞不當之增生，同時預留空間，以利生長速率較慢之其他組織細胞能重新聚集在骨缺損區，進一步形成骨質再生之治療方式。目前市面上暨有之 GTR membrane 商品超過 15 種以上，其中國內具代理商之商品則多達 8 家，而目前國內尚無廠家生產，醫療上之需求全賴進口供應，顯示出 GTR membrane 在醫療上之重要性，與國人積極投入研發之重要性。

綜觀市售 GTR 膜片商品種類雖多，然而臨床實務上，在 GTR 手術後之 3 - 6 週為減少或舒緩發炎反應，往往需藉助抑菌漱口水，必要時甚至使用抗生素藥物，並起有 Atrisorb-D®產品在 GTR Barrier 中添加 Doxycycline 以解決術後發炎問題，然而 Atrisorb-D®係以將聚乳酸與抗生素溶於 NMP 溶劑中使其具流動性方便施打，操作時則需藉由水之沖洗移除溶劑 NMP，使聚乳酸溶液固化成具孔洞之薄膜，然而因 Doxycycline 為具水溶性之抗生素，易伴隨 NMP 移除時被洗出而流失，再者由 Atrisorb-D®之經體外釋放控制測試研究指出，在 24 小時之內 Doxycycline 釋放的比例高達 90%以上，使得抗生素之劑量設計時常不易兼顧安全性與持久性。

為克服上述問題，將應用具有抑菌性之天然多醣類 (Polysaccharide) 幾丁聚醣 (Chitosan)，文獻已證實對於在牙周病病原菌中常見的 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.A)和 *Porphyromonas gingivalis* (P.G)的生長抑制，促進傷口癒合，與新骨增生上也有不錯的效果，而 Chitosan 在酸性水溶液(pH < 6.3)中之溶解度雖依其去乙醯度之不同而異，但在鹼性環境中並不溶解，而在口腔中正常唾液的 pH 值介於 5.6 到 7.6 間，故在配方設計上以添加幾丁聚醣來提供 GTR barrier 持久之抑菌功能。

在幾丁聚醣(Chitosan)原料之來源上，鑑於動物性流行疾病的發生頻傳及重金屬污染問題嚴重，加上蝦蟹類殼本身因季節性的差異，其組成分變異性大，批次間之分子量與去乙醯度變異大，對於醫療器材生產之 GMP 廠法規對於原物料進料檢驗，常有不易符合規格之困擾，使得此一深具潛力之生醫材料，在歐美等地僅可充當健康食品，若能採用本土人工培養之溫室栽培靈芝為原料，提煉出非動物性之靈芝幾丁聚醣原料，符合生醫材料應用時所重視之功能性、生物相容性及原料規格穩定性，成為幾丁質(Chitin)的新

來源。目前已有研究以松杉靈芝(Ganoderma tsugae)之殘渣作為植物性 Chitin 的來源，並命名為”Sacchachitin”，並鑑定其主要結構為 Glucosamine 及 N-Acetyl-D- Glucosamine (GlcNAc)單體以 β-1,4 鍵結所形成的一種規則且具連接性的高分子聚合物。而 Chitosan 則可經由 Chitin 經過不同程度的去乙醯化作用，將部份或全部的乙醯胺基轉成胺基，為 GlcN (N-D-Glucosamine) 和 GlcNAc 之 copolymer，預期靈芝幾丁質會比從 crustacean shell 萃取出的品質穩定，而在滅菌上可利用高壓蒸氣滅菌法，不需以放射線照射。

非晶型磷酸鈣，Amorphous Calcium Phosphate, $Ca_3(PO_4)_2 \cdot nH_2O$，簡稱ACP，屬於磷酸鈣種類之一，通常被認為是溼式化學反應系統中磷酸鈣生成前的中間產物，當反應系統中Ca^{2+}與$PO4^{3-}$濃度達到飽和時，ACP則開始從溶液中析出。ACP的化學組成與溶液中pH值及初始鈣離子與磷酸根離子濃度相當密切，當反應系統中的pH值從pH=6 提升 pH=11 時，ACP的Ca/P比可從 1.18 提升至 1.53。ACP其結構目前並無明確，一般認為是 $Ca_x(PO_4)_y \cdot nH_2O$，以X-ray繞射分析中在 26°~34^o會有一繞射波峰。並且ACP在生理環境之下藉由水解作用進行晶體轉換(Transform)與重組(Reconstruction)形成生物體內骨組織成分相似之氫氧基磷灰石(Hydroxyapatite, HA)。ACP除化學結構與HA近似外，但因結晶度較低，較易為人體所吸收，而有助於骨癒合成長。

本研究係以前期可注射式之吸收性聚乳酸共聚物溶液系統為基礎，透過導入靈芝多醣體之抑菌、止血與加速癒合機能，提供長時間有效地降低發炎反應以縮短療程，並結合非晶型磷酸鈣之添加促進骨細胞之再生，發展出具複合機能性與臨床應用方便性之新型可注射式 PLA/Chitosan/ACP GTR barrier 產品應用到牙周病治療。本計劃之年度工作重點為原料製程開發，以奠定配方設計之基礎，主要工作如下：

(1) Process development of Ganoderma Sacchachitosan
(2) Process development of amorphous calcium phosphate (ACP)
(3) Formulation design of PLA/Sacchachitosan/ACP GTR Barrier
(4) Rheological and biocompatibility test of Ganoderma chitosan/PLA/ACP GTR Barrier

二、材料與方法

2.1 材料

2.1.1 靈芝幾丁聚醣(Sacchachitosan)製程材料

- 松山靈芝子實體殘渣，南投，台灣
- NaOH (1 N)，試藥級，Acros, USA
- NaOH (50 %)，試藥級，昭和化學株式會社，Japan
- Hydrogen Peroxide (35 %)，試藥級，Acros, USA
- $NaClO_3$ (6 %)，工業級，Acros, USA
- Lactic Acid (90 %)，試藥級，Acros, USA
- Tiluidine blue (0.1 %)，試藥級，Wako, Japan
- PVSK (potassium polyvinylsulfate, n > 1500) (N/400)，試藥級，Wako, Japan

2.1.2 ACP (Amorphous Calcium Phosphate)粉體製程材料

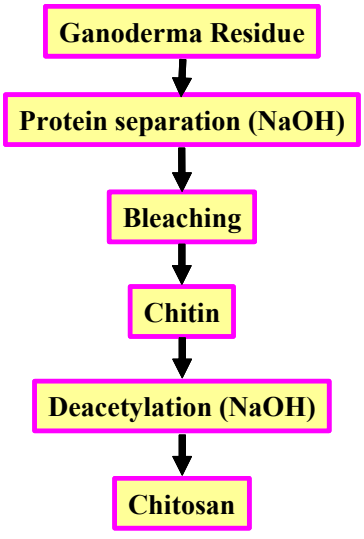
- Calcium Nitrate Tetrahydrate, $Ca(NO_3)\cdot 24H_2O$, FW=236.15, Wako, Japan
- Diammonium Hydrogenphosphate, $(NH_4)\cdot 2HPO_4$, FW＝132.06, Kato, Japan
- Ammonia, NH_3 (25 %)，試藥級，Wako, Japan
- Potassium Phosphate Monobasic : KH_2PO_4, FW＝136.09, Acros, USA

2.1.3 PLA/Chitosan/ACP GTR Barrier 製程材料

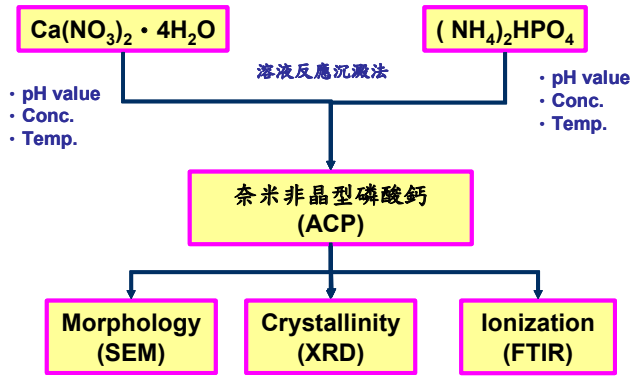
- Poly(D/L-lactic acid), 20KDa, BMG Inc., JAPAN
- Sacchachitosan (靈芝幾丁聚醣) : 實驗室自製
- ACP (Amorphous Calcium Phosphate) : 實驗室自製
- N-Methyl-2-pyrrolidinone (NMP), Acros, USA
- Lactic acid (90%)，試藥級，Acros, USA

2.2 實驗流程圖

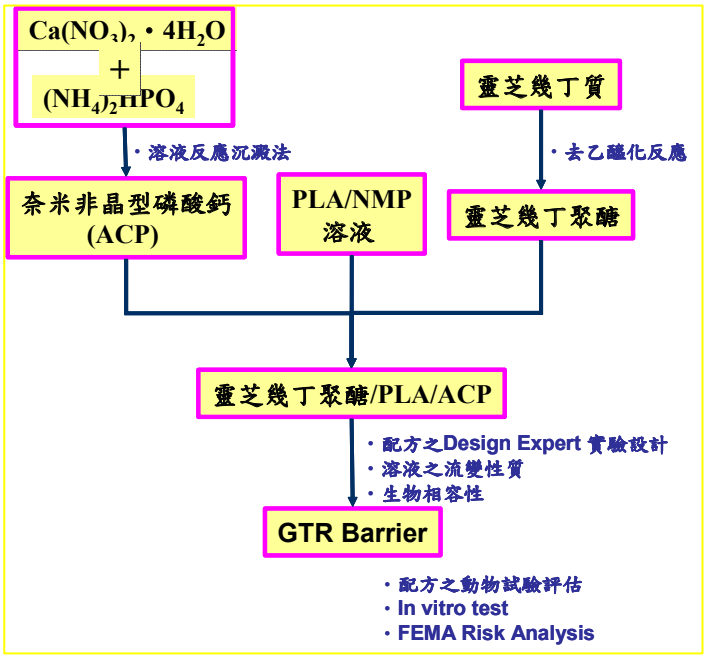
2.2.1 Flow Diagram of Ganoderma Sacchachitosan Preparation



2.2.2 Flow Diagram of ACP (Amorphous Calcium Phosphate) Preparation



2.2.3 Flow Diagram of PLA/Chitosan/ACP GTR Barrier Preparation



三、結果與討論

3.1 Ganoderma Sacchachitosan Preparations

靈芝子實體殘渣之處理製程中之漂白(Bleaching)程序，常用之藥劑以次氯酸鈉溶液或是過氧化氫溶液為主，雖次氯酸鈉溶液具有殺菌功能，但在製程之廢液處理上往往造成微生物廢水處理槽之毒化，而嚴重影響區域之廢水處理，故在考量環保時會採用無氯漂白製程，然而H_2O_2漂白劑之漂白速率會受pH值條件影響，測試上取濃度 35%之H_2O_2，以樣品:H_2O_2含量=1:5 之比例，分別在pH=7、pH=8、pH=9、pH=10 及pH=11 之條件下進行漂白之動作。可發現漂白速率會隨著環境中pH值的提高而加速，當pH=10、11 時漂白的速率為最快，但在pH=11 時，因反應過於激烈，氣泡過多常導致溢出，難以控制，所以在漂白條件

之pH值選擇上則以pH=10 為基準，並利用SEM分次觀察其纖維之粗細與分佈狀況，結果如 Figure 1 所示，大體上在不同pH值下之H_2O_2中漂白之靈芝殘渣纖維細度大於在次氯酸鈉溶液之漂白者。

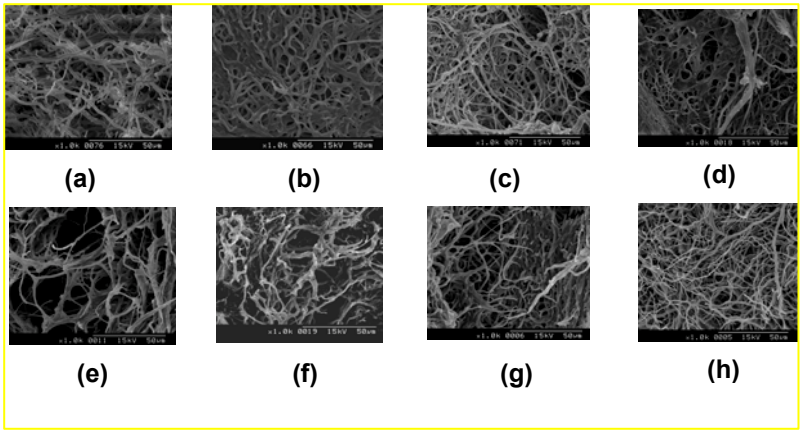


Figure 1 SEM photograph of (a) Ganoderma residue, (b) de-protein residue, SC bleached with H_2O_2 under (c) pH=7, (d) pH=8, (e) pH=9, (f) pH=10, (g) pH=11, and with (h) NaOCl, respectively.

將漂白後之纖維，以核磁共振法(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy，NMR) 量測去乙醯度(degree of deacetylation, DD)，在鹼性中漂白後之DD 值約在 23.6- 25.1 %之間（結果如 Table 1）。

Table 1 DD for residue of Ganoderma fruiting bodies and sacchachitin

Treatment	DD measured by NMR (%)
Residue of Ganoderma fruiting bodies	**16.32**
SC bleached with H_2O_2 / pH = 7	**21.46**
SC bleached with H_2O_2 / pH = 9	**23.64**
SC bleached with H_2O_2 / pH = 11	**25.16**
SC bleached with NaOCl	**29.35**

*Mean ± SD (n=4)

將經由酒精及水萃取後之松杉靈芝子實體殘渣放入粉碎鍋粉碎後，經去蛋白與漂白程序後，再以大量蒸餾水清洗去除氯離子及調pH值到 7，殘渣經過濾、冷凍乾燥可得到靈芝幾丁質(Sacchachtin)。再經過 50% NaOH在 100℃下處理，冷卻後以過濾收集液體與固體。在固體方面，先以 35% H_2O_2進行漂白及乾燥後，用 2%的乳酸溶解，將不溶物質去除，再用 4% NaOH進行酸鹼中和，並將沉澱之物質取出，最後再經冷凍乾燥後所得之物質即為靈芝幾丁聚醣(Sacchachitosan)，並以膠體滴定法(PVSK titration)量測去乙醯度。處理時間 5 及 15 小時之Sacchachitosan， 其DD結果分別為 66.5 及 73.2 % (如Table 2)。製程之產率測量結果如Table 3 所示，由靈芝殘渣備製Sacchachitosan之產率為 0.8 ~ 1.3%

Table 2 DD and Mv for Sacchachitosan with different alkali-preparation and time periods

Deacetylation Treatment	DD measured by PVSK titration *(%)	Mv (Da)
5 h; 50% NaOH	66.5 ± 2.4	$2.08x10^5$
15 h; 50% NaOH	73.2 ± 3.1	$5.88x10^4$

*Mean ± SD (n=4)

Table 3 Yield of SC and Sacchachitosan produced by residue of Ganoderma fruiting bodies

	Yield
SC bleached with NaOCl	26%
SC bleached with H_2O_2	38~40%
Sacchachitosan	0.8~1.3%

針對口腔中最常見的兩種菌體 P.G. (Porphyromonas Gingivalis)及A.A. (Actinobacillus Actinomycetemcomitans)，來進行靈芝幾丁聚醣之抗菌測試，對於Sacchachitosan 最小之抑菌濃度約在0.1%左右。2%之Sacchachitosan 溶液在120分鐘後其抑菌效率為13%，過了24 小時後，抑菌效率為36% (Figure 2 (a))。幾丁聚醣的antibacterial activity 功效與其DD 和 molecular weight 有很明顯的關係，DD 愈高，molecular weight 愈小，抑菌功效會隨之提高。因此將來可藉由降低Sacchachitosan 的分子量以提高其抑菌性。

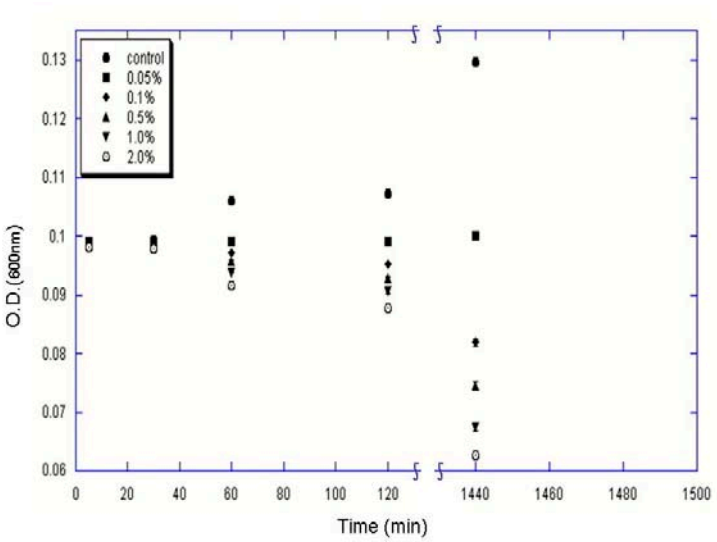


Figure 2 Growth inhibitions of *A. actinomycetemcomitans* of (a) 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1% and 2% of sacchachitosan. Results are represented as means ± SD of three experiments.

3.2 ACP (Amorphous Calcium Phosphate) Preparation

以溶液沉澱法自製之磷酸鈣鹽，透過製程條件之控制可以備製出粒徑約 50 nm 之奈米磷酸鈣鹽(Figure 3)，ACP 粉末之結晶相的經 X-ray diffraction, Rigaku D-2200，掃描速率為 1°/min 下進行之分析鑑定為非晶型(Figure 4)，將待測物貼附於含碳膠的金屬載台上，經過真空鍍碳處理後置於能譜儀上，每一樣品取三點作鈣磷比 Ca/P 元素分析成分定量分析， Ca/P 結果為 1.49，與典型 ACP 之 Ca/P 值 1.5 相近似。

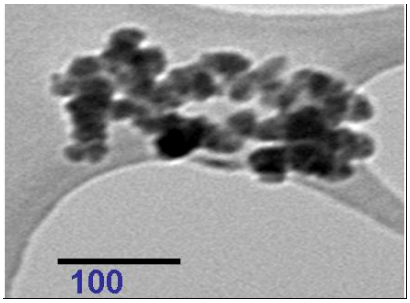


Figure 3 SEM graph of ACP (amorphous calcium phosphate)

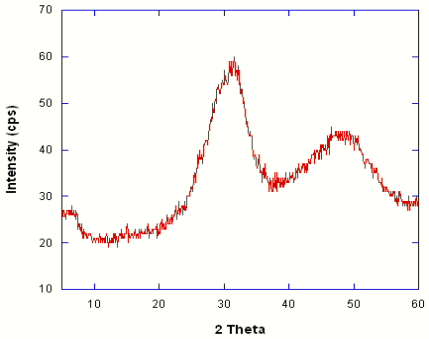
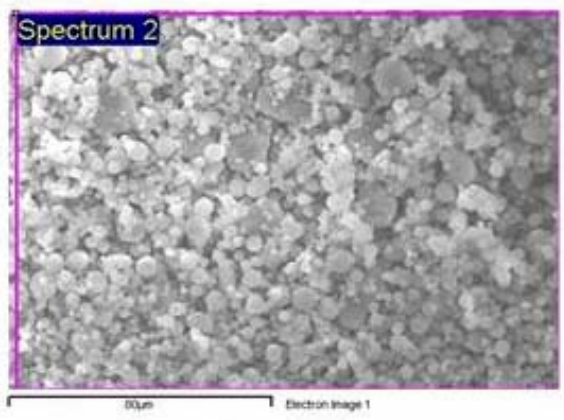
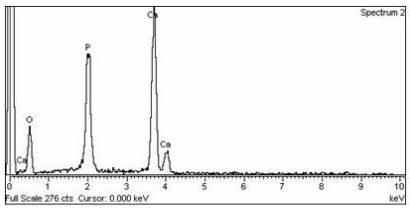


Figure 4 XRD 2θ scan of ACP (amorphous calcium phosphate)





Element	Weight%	Atomic%
O K	49.42	68.98
P K	17.3	12.47
Ca K	33.28	18.55
Totals	100	
Ca/P ratio:	1.487570168	

Figure 4 EDS analysis of ACP (amorphous calcium phosphate)

爲穩定 ACP 粉體之製程，在乾燥上採用噴霧乾燥(Spray Drying)，由於影響 ACP 粉體粒徑的因素，除了反應溫度外，亦包含噴霧乾燥機的乾燥條件設定，因此實驗是利用

Design – Expert 軟體來找尋最佳 ACP 粉體粒徑的回歸公式，條件設定方面主要分為三項：（1）兩種溶液混合時的反應溫度。（2）噴霧乾燥機的流速。（3）將經由水洗過濾後的沈澱物，加上 D.D.W 稀釋的倍率，Design-Expert 之實驗設計與實驗結果如 Table 4 所示。而經回歸分析所得之 ACP 粉體顆粒之粒徑與製程條件之關係如下式所示:

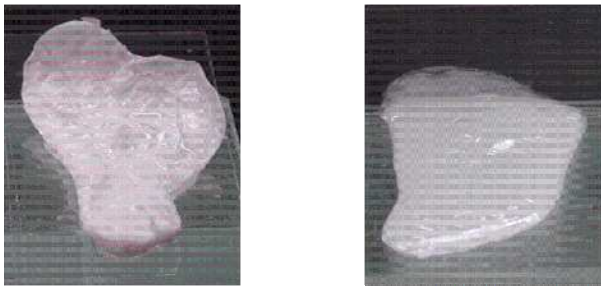
$$\text{Particle Size (nm)} = 1006.73 + 238.97 * (\text{Reaction Temp}) + 33.32 * (\text{Flow Rate}) - 125.12 * (\text{Dilute Ratio})$$

Table 4 ACP powder production DOE (design of experiment) by Design-Expert®

Run	Factor A Reaction Temp (℃)	Factor B Flow Rate (ml/hr)	Factor C Dilute Ratio	Response Particle Size (nm)
1	25	400	4	930.9
2	50	400	1	1334
3	25	250	1	1066
4	0	250	2.5	807.3
5	50	250	4	1283
6	0	100	1	1057
7	25	100	2.5	909.7
8	50	100	1	1302
9	0	400	1	912.3
10	0	100	4	443

3.3 PLA/Chitosan/ACP GTR Barrier Preparation

將含 0.1%ACP 之 PLA/Chitosan/ACP 溶液置於去離子水中 24 小時，經水洗固化沉澱去除所含之 NMP(N-methyl pyrrolidone)及 lactic acid 混合溶劑後，形成白色片狀物(Figure 5(a))，即使延長在水中浸泡之時間達 5 天，並不影響成形物之外觀，但若將薄膜於靜置室溫下乾燥 48 小時後，其外觀則由原先具摺痕之白色固體薄片，轉變為體積膨潤呈半透明狀，並具有柔軟可塑特性之複合材(如 Figure 5(b))所示，此時如將複合材重新浸泡於水中，則可恢復如(Figure 5(a))之白色固體形態。雖然其固體成份中聚乳酸之比例高達 99.82 wt% (ACP：0.10 wt%；chitosan：0.08 wt%)，一般之 PLA 聚乳酸材料由於玻璃轉化溫度(Tg)在 55～60 ℃間，故在室溫下，聚乳酸高分子仍處於玻璃態，應不具柔軟手感與可塑性，故特深入探討 PLA/chitosan/ACP composites 之(a)可塑性(b)膨脹現象。



(a)After solidifying (b) After 48 hours storage

Figure 5 Apparent morphology of coagulated PLA/chitosan/ACP composites

由於 PLA/chitosan/ACP 複合材在施予適當之應力時,會由原先之固體狀態呈現出可塑形之特性，現象上與屈伏強度(yield strength)所表徵使材料產生微量永久形變的最小力量之定義相符，故可藉此量化指標比較材料之相對軟硬程度。將不同 ACP 含量之 PLA/chitosan/ACP 溶於共同溶劑中，經水洗固化沉澱與 48 小時之室溫乾燥靜置後，將所備製之薄片狀樣品以流變儀在改變剪切速率(shear rate)時，紀錄相對應之剪切應力(stress)數據，其變化曲線如 Figure 6，並以 shear rate 趨向於零時之應力大小定義為該組成份複合材之屈伏強度，PLA/chitosan (99.92/0.08)之成形薄片，其屈伏強度值約為 1,000.0 Pa，當複合材添加 0.10 wt%之 ACP 時，明顯呈現柔軟可塑之手感與較低之屈伏強度值(25.0 Pa)，然而當 ACP 添加量持續提高時，複合材相對地呈現較硬手感與屈伏強度增加之趨勢，當 ACP 之含量達到 5.0 wt%時，其複合材之屈伏強度值更高達 3,162.0 Pa，明顯高於 PLA/chitosan 材料。

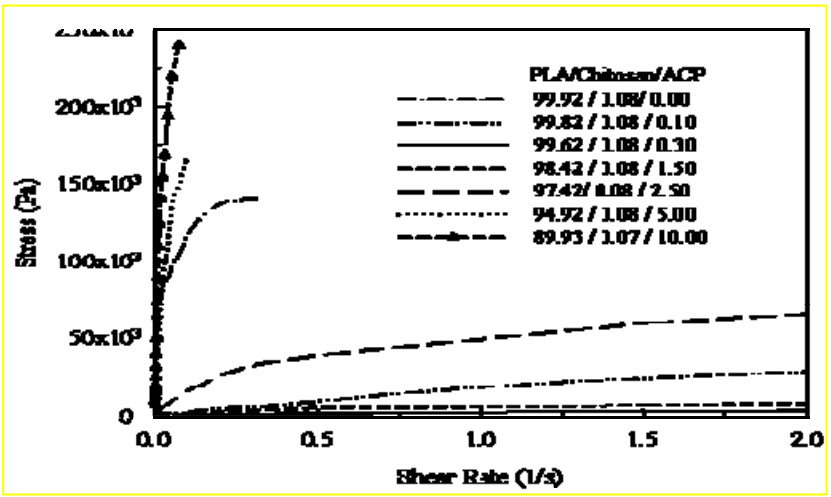


Figure 6 Yield stress measurement of various PLA/chitosan/ACP composites

為釐清複合材中殘留溶劑之種類與比例，可應用 TGA 熱重分析儀測試不同比例的 PLA/chitosan/ACP 複合材，在固定升溫速率下之重量保持率(weight retention)，Figure 7 為不同組成份複合材之熱重量損失關係圖，圖中可顯示出各組複合材隨著加熱溫度之提高，其重量損失曲線呈現兩階段的下降：第一階段之溫度範圍由室溫至 250 ℃，第二階段之溫度範圍由 250 至 400 ℃。依材料成分來分析，系統中所使用溶劑除水之外，尚有 NMP 與乳酸而其沸點範圍分別約為 202 ℃及 119 ℃，由於在 200 ℃左右範圍內，曲線中並無顯著相對應於 NMP 溶劑的重量損失，顯示第一階段之重量損失部分主要與水份之蒸發有關，而第二階段之重量損失主要為聚乳酸高分子之裂解，而當加熱超過 400 ℃以上，所含有的 PLA/chitosan 高分子成份幾乎可以被完全碳化，殘留灰份之成份應以無機之 ACP 為主。在應用熱重分析試驗後，可以室溫與 250 ℃溫度間之重量保持率差異估計出基材中之含水率，其中 PLA/chitosan 薄膜之含水率為 2.50 wt%，而當添加 0.10 wt% 之 ACP 後複合材之含水率可提高至 42.50 wt%，之後隨著無機鹽類 ACP 之添加量提高，水份含量比例呈現下降之趨勢，例如添加 0.30 wt%之 ACP 者，含水率為 26.40 wt%，當 ACP 含量提高至 10.00 wt%時，水份含量僅剩 6.40 wt%。

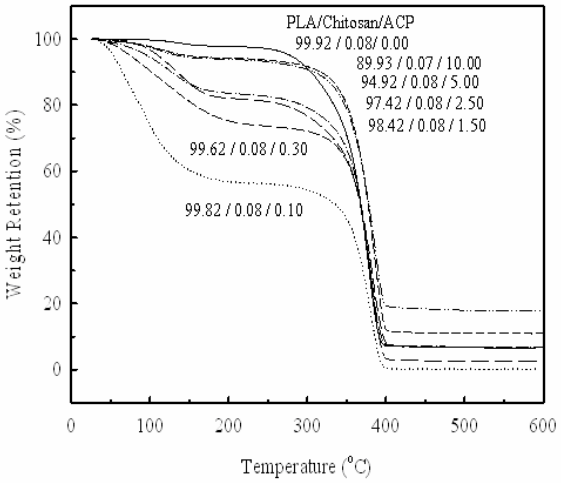


Figure 7 Thermal gravimetric analysis (TGA) curves of various PLA/chitosan/ ACP composites

Figure 8 為複合材中不同 ACP 含量對含水率及屈伏強度之影響，在未加入 ACP 之複合材，水份含量較低為 2.50 wt%，屈伏強度為 1,000.0 Pa，當 ACP 含量增加至 0.10 wt%時複合材，水份含量提高至 42.5 wt%而屈伏強度則降至 25.0 Pa，當 ACP 含量為 0.3 與 1.5 wt%時屈伏強度呈現相對之低值 10.0 - 12.6 Pa，之後則隨著 ACP 含量增加，其屈伏強度值亦逐漸增高，在添加 10.00 wt%之 ACP 時，複合材的屈伏強度值可高達 7,943.00 Pa。由上述含水率與屈伏強度之消長變化顯示，無機鹽類含量影響到吸收水分的多寡，因此推論

PLA/chitosan/ACP 複合材在吸收大量之水分後，可能因水份之塑化效應(plasticization)使複合材呈現出柔軟可塑的物性。

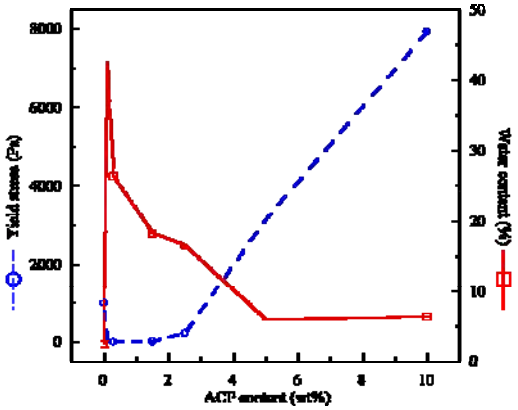
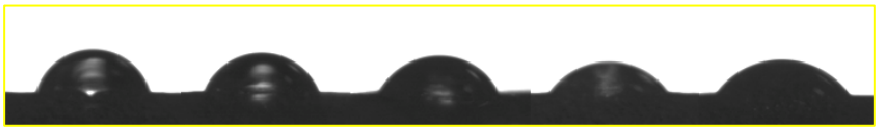


Figure 8 Yield stress and water content of various PLA/chitosan/ACP composites

一般而言，PLA 之吸水率約 0.3 wt%，而 chitosan 之水份含量則依分子量與去乙醯度之不同而異，約在 5 ~ 15 %之間，而 ACP 雖具親水性，但是在水中之溶解度亦不高，但在如 0.10 wt% ACP 含量之 PLA/chitosan/ACP 複合材之含水率可高達 42.50 wt%，相較於 chitosan 與 ACP 總和含量之 0.18 wt%，重量比高達 236 倍，顯示當在疏水性之聚乳酸 PLA 基材中加入少量之 chitosan/ACP，卻可明顯改變整個複合材之吸水性，這樣組成分之改變，亦反映在複合材之親水性對時間之變化，如 Figure 9 為 PLA /chitosan /NMP composite 在不同靜置時間後之 contact angle 變化，毛細現象之存在將影響評估。



靜置時間 (hr)	0	6	10	24	48
Contact angle (^{o})	71.60	68.00	63.60	52.20	48.80

Figure 9 Content angle changes of PLA/chitosan/ACP composites at different time

四、結論

由靈芝殘渣可製成 DD 值 66 ~ 73%，最小之抑菌濃度約在 0.1 %之 Sacchachitosan，自制之 ACP 其 Ca/P 為 1.49，依乾燥方式之不同，粉體之顆粒大小可在 50 ~ 1000 nm 之間，PLA/chitosan/ACP 在 NMP/lactic acid 共溶劑中可製成可注射式之 GTR barrier，而經水洗固化後之 PLA/chitosan/ACP 複合材，呈現出特殊之吸水性與可塑性，推測可能與 Sacchachitosan 與 ACP 形成親水性之離子基團有關，且反映在親水性隨時間增加現象上。

參考文獻

1. 侯連圍，劉謙美，王敏瑩，豐富，“引導組織再生術的科學原理和牙周細胞移植法在牙周骨缺損手術的應用”，中華牙周醫誌，2:209-215 (1997).
2. 黃啟洲，曾春祺，袁國，“拔牙後及時施行引導組織再生術以保留齒槽脊--病例報告”，中華牙周醫誌， 2:70-76 (1996).
3. 蔡尚文，黎永康，”引導組織再生術治療上顎第一大白齒之第三級根叉侵犯病例報告”，中華牙周醫誌，2:145-151 (1997).
4. 黃國精，曾春祺，”運用 ITI 植牙做為牙齒外傷缺牙區之贋復治療：病例報告”，中華牙周醫誌， 5:219-223 (2000).
5. 凌久惠， 陳立民，曾春祺，”以引導組織再生術治療伴隨有牙根表面牙結石狀沉著物 的齒根尖周圍病灶--病例報告”，中華牙周醫誌，4:33-37 (1999).
6. 曾春祺，黃啟洲，袁國，“Atrisorb 可吸收再生膜的現況與臨床應用”，中華牙周醫誌，4:97-103 (1999).
7. 董醒任，藍文謙，陳瑞雲，楊世芳，”骨髓基質與牙齦造纖維細胞在阻隔膜上的附著與形態表現”，中華民國醫誌，4：25-32 (1999).
8. 呂炫，吳銘芳，李長佑，“豬皮膠原蛋白膜之組織整合性”，中華牙周醫誌， 5:15-21 (2000).
9. 陳瑞雲，董醒任，”膠原蛋白膜於牙周再生的應用”，中華牙周醫誌， 4:173-188 (1999).
10. 黃國光，江正陽，謝耀東，沈一慶，傅鍔，“運用骨成形蛋白質於提升上顎竇手術之效果”，中華牙周醫誌 4:153-162 (1999).
11. 王敏瑩，陳勝弘，”Metronidazole 與 Amoxicillin 兩種抗生素合併使用對治療牙周病之臨床效果探討”，中華牙周醫誌，3:65-70 (1998).
12. 王敏瑩，黃卉雯，“四環黴素纖維應用於牙周病治療”，中華牙周醫誌，4:135-142 (1999).
13. J.H. Goedemoed, W.E. Hennink, U.S. Pat. 5,980,948 (1999).
14. J.A. Jansen, J.E. de Ruijter, P.T.M. Janssen, and Y.G.G.J. Paquay, “Histological Evaluation of a Biodegradable Polyactice® /Hydroxyapatite Membranr, Biomaterials, 16, 819-827 (1995).
15. Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantol DJ. Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. Biomaterials, 21: 757-764, 2000.
16. Rose FR, Oreffo RO. Bone tissue engineering: hope vs hype. Biochem Biophys Res Commun, 292: 1-7, 2002.
17. Petite H, Viateau V, Bensaid W, Meunier A, de Pollak C, Bourguignon M, Oudina K, Sedel L, Guillemin G. Tissue-engineered bone regeneration. Nat Biotechnol, 18: 959-963, 2000.