

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

吸收性聚酯共聚物/氫氧磷灰石複合材之引導組織再生薄膜
研究(2/2)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2314-B-038-013-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：臺北醫學大學口腔復健醫學研究所

計畫主持人：李勝揚

計畫參與人員：楊正昌、詹進忠、李憲坤

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 10 月 29 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫結案報告

※ ※

吸收性聚酯共聚物/氫氧磷灰石複合材之
引導組織再生薄膜研究

※ ※

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 92-2314-B038-013-

計畫期間：91 年 08 月 01 日至 93 年 07 月 31 日

計畫主持人：李勝揚 教授

計畫參與人員：楊正昌、詹進忠、李憲坤

執行單位：台北醫學大學/口腔醫學院/牙醫學系所

中 華 民 國 93 年 10 月 27 日

吸收性聚酯共聚物/氫氧磷灰石複合材之 引導組織再生薄膜研究

李勝揚

台北醫學大學口腔醫學院口腔復健醫學研究所

計畫期間：91年08月01日至93年07月31日

計畫編號：NSC 92-2314-B038-013-

一、中文摘要

以目前組織導引再生薄膜商品多以單一材質為主，其有限之功能尚不足兼顧臨床上最佳化之需求，如何透過新薄膜材料之設計與研發，發展出吸收速率適中之新材料，適切地抑制上皮細胞之增生，而加速骨細胞與其他組織之成長，以減少病患在治療過程之不適與縮短痊癒時間，相信是值得研究之方向，本兩年期之計畫，第一年重點在設計與備製新吸收性引導組織再生薄膜，本期工作重點為建立新材料開發之關鍵技術，針對控制吸收性聚酯材料化學特性相關之固態聚合、熱熔酯交換、及水解等反應，進行研究，應用熔融酯交換之加工方式將軟性鏈結及硬性鏈結之聚酯材料製成具可吸收性之彈性體高分子，再將之與氫氧磷灰石混摻後製成薄膜，並將薄膜之單面塗佈可減少牙齦發炎之水性膠體，試製出能兼具柔軟性與加速骨細胞生長速率特性之薄膜原型(prototype)，以進行生物相關特性測試。第二年則是以進行吸收性引導組織再生薄膜之生物相容性與動物試驗為主，瞭解可吸收性薄膜在動物體內之分解速率，及後續發展之研究的方向。

關鍵詞：組織引導再生術、吸收性薄膜、氫氧磷灰石、酯交換反應

Abstract

The improvement in surgical technique and the barrier materials have made the GTR technology successfully applied in treating the periodontal diseases. Various resorbable barrier materials have been marketed during these few years offering the benefit of no need for second-stage surgery. Although these materials showed some promising results, it has to conclude that the ideal resorbable membrane still needs to be developed. Our goal is to develop a hybrid polymer GTR membrane system to meet specific human biology requirements and to reduce the period of healing time.

We proposed a two-year project. The major task of the first year will be the design and preparation of resorbable GTR membranes. In the second year, in vitro and in vivo test will be employed to evaluate this multifunctional GTR membrane. So far, the melt transesterification, solid-state polymerization, and hydrolysis reaction were studied to establish the core technology. The addition of hydroxyapatite (HA) will enhance osteoconductive properties into resorbable polymer matrix. The prototyping hybridized GTR membrane will be prepared by the end of first year to ensure the continuity of second year project.

Keywords: *GTR · transesterification · resorbable membrane · hydroxyapatite (HA)*

二、計畫緣由與目的

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八十%，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。而在治療的過程中，有來自牙齒周圍多種細胞（如牙周韌帶、結締組織、齒槽骨及上皮細胞等）皆處於相互競爭得狀態（如圖一），而其中以牙齦上皮細胞生長速率較快，一旦牙周的齒槽骨缺損空間部分遭增生之上皮細胞佔據，則其治療復原的效果不佳。

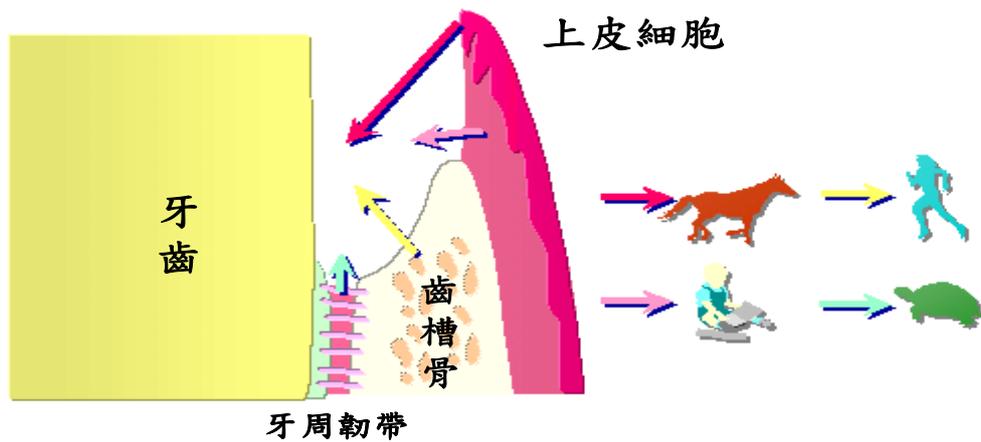


Fig 1. 參與齒骨缺損癒合過程相互競爭之各種細胞與相對生長速度

牙周病的治療在於口腔中的清潔後，第二階段再以手術方式重建齒槽骨。而再生治療是基於牙周組織由不同細胞所組成，而每種細胞之增生速率差異而造成癒合過程中之彼此相互競爭，進而利用引導組織導引再生術(Guided Tissue Regeneration)之概念應用到牙周病之治療上，是以薄膜片植入患處，不僅可藉以阻隔生長較快的上皮細胞，並同時預留出一個空間，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（如圖二），進一步形成骨質再生之治療方式，其中引導組織再生膜在治療過程當中扮演著重要的角色。

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。在國內之臨床方面，GTR之使用已有多數歷史，而且應用越來越廣，例如牙周疾病的治療 [1]，拔牙後保留齒槽脊 [2]，白齒之第三級根叉侵犯之治療 [3]，外傷缺牙區之覆復治療 [4]等，而在材質發展上具可吸收性之 GTR 薄膜，例如 Atrisorb[®]膜 [4,6]，或是(D,L-lactide-co-glycolide) BioMend[®]膜 [7]等，都曾在國內之臨床研究上被證實其療效，除了薄膜材質之是否具吸收性外，有助於傷口之組織整合性癒合之膠原蛋白膜[8-9]，或是運用骨成形蛋白質提升

手術之效果 [10]，甚至於抗生素之合併使 [11]，或是四環黴素纖維應用牙周病治療[12]等均見臨床上之研究。

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，然而理想之吸收性 GTR 膜片則仍待開發，主要之問題在於此吸收性薄膜必須能符合人體之特性與生物需求，具備適當之柔軟性、液體通透性，及生物相容性，及能抑制過度之發炎反應外，又能加速骨細胞、牙齦結締組織細胞和牙周韌帶細胞，另外其薄膜之機械物性需能顧及植入操作之方便性卻又不妨礙牙周組織之修復成長，最後在吸收速率之控制上需能控制在 6 週至 6 個月之間，基本上單一材質似乎不易滿足上述所有之需求，本計畫是由臨床需求為出點，而以材料技術之觀點，發展出複合不同材質特性之技術，以利新 GTR 膜片之開發。

在各 GTR 膜片商品中 Polyactive[®]，係以 PEG/PBT (60/40)之共聚物為基材並含 30% HA，雖醫療上尚未獲國內臨床研究確認，然而在其分子設計上，並未使用乳酸等常見之吸收性高分子單體，而是具芳香族單體之 PBT (polybutylene terephthalate)備製其共聚物，文獻報導該材質仍具有優異之生物相容性及生物分解性[13-14]，是個值得深入探討之分子設計理念。

幾丁聚醣本身就是一種天然的高分子其具有的抑菌性質已有很多文獻已證實，而在牙周病病原菌中常見的 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* 和 *Porphyromonas gingivalis* 的生長抑制上也具有良好效果並且在促進傷口癒合上也有不錯的效果。並以添加幾丁多醣體，以提昇 GTR barrier 之功能性。

本兩年期之研究計畫，第一年重點在設計與備製新吸收性引導組織再生薄膜，在針對熱熔酯交換、固態聚合、及水解等反應進行研究以發展複合與調整不同材質特性之核心製程技術，透過熔融酯交換之加工方式將軟性鏈結及硬性鏈結之聚酯材料製成具可吸收性之彈性體高分子，再將之與氫氧磷灰石混摻而在分子設計上，則是應用 Polyactive[®]之觀念設計出具生物可吸收性之新材料，以為發展新 GTR 膜片之基礎。

第二年則是進行吸收性引導組織再生薄膜之細胞培養與動物試驗評估，瞭解可吸收性薄膜在動物體內之分解速率，與目前可吸收阻隔膜應用於引導組織再生技術時所面對的問題及未來研究的方向。本計劃之研究重點包括

- (1) 利用不同聚酯高分子間之酯交換(Transesterification)反應特性，探討酯交換之加工條件與生物分解速率之關係。

- (2) 以 Processing-Blending 方式進行 hybrid composite 備製
- (3) GTR membrane 表面之 chitosan hydrogel coating 處理
- (4) GTR membrane 之 in vitro & in vivo evaluation (Animal Test)

三、材料與方法

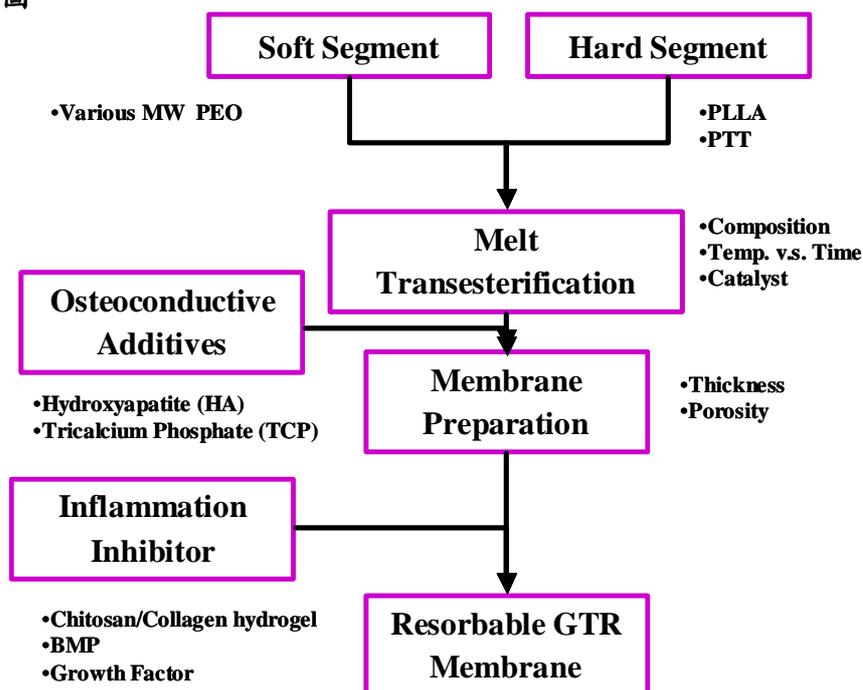
(1) 材料

PLLA (poly lactic acid), MW=182 kD, Shimadzu Co. ; PET (polyethylene-terephthalate) I.V. = 0.64 dL/g, 遠東化纖 ; CD-PET (cation dyeable Polyethylene-terephthalate), I.V. =0.6 dL/g, 新光合纖 ; PBT (polybutylene terephthalate), I.V. =0.8 dL/g, 新光合纖 ; PPT (polypropyleneterephthalate), I.V. =0.7 dL/g, 華隆公司。PCL (poly(-caprolactone), MW = 80,000, Dow Chemical ; Chitosan (DD=95%, 35KDa), 世展科技。Lactic acid, ACROS。N-Methyl-2-pyrrolidinon (NMP), ACROS。Distilled water (實驗室製備)。

(2) 實驗儀器設備

- (1) 20ml Sample bottle, 雙進。
- (2) 磁石攪拌/加熱儀, PC-420, CORNING, USA。
- (3) 電子天秤, XS205, METTLER TOLEDO。
- (4) pH meter, SP-2200, SUNTEX。
- (5) 掃描式電子顯微鏡, Scanning Electron Microscope(SEM), S-2400, HITACHI, Japan。
- (6) 塑譜儀(Internal Mixer), Hakke Polydrive
- (7) 試片成型機 (Laboratory Mixing Molder), Altas

(2) 製程流程圖



3. 實驗方法

- (a) 熱熔酯交換反應：使用三氟醋酸為溶劑分別沛製成 5 wt% 之溶液，依設定之比例以溶液混摻進行 PLLA/PBT 及 PLLA/CD-PET 系統之混合，以水為共同溶劑將混合物沉澱出，乾燥後，裝入鋁盤中以 DSC (Differential Scanning Calorimeter), (Pyris 1, Perkin-Elmer, USA) 進行測試，據此探討出熱熔酯交換反應之加工條件，再以塑譜儀選定適當溫度進行 PLLA/PBT 混合物之混煉。
- (b) 固態聚合反應：將 PET 與 PTT 以單螺桿混鍊機依 (95/5)、(90/10)、(80/20)、(75/25) 比例混合後造粒，將不同組成分之原料置於真空烘箱中進行不同時間之聚合。
- (c) 水解反應：將 PLLA 應用水解反應在 121°C 之高溫下，以時間控制反應程度，PLLA 之分子量變化則是以 GPC (Gel-permeation Chromatography), (Series 200, Perkin-Elmer, USA) 量測。
- (d) 複合材料之備製：將 PCL 與 PLLA 及 Hydroxyapatite (HA) 依設定之組成比例，置於塑譜儀中，依設定之溫度進行混摻，紀錄攪拌之扭力值 (Torque) 對於時間之關係，藉以評估加工操作之條件。
- (e) Chitosan in Lactic acid / Water / NMP 溶液系統之三相圖：(a) 先將 Chitosan 與 Lactic acid 以 1 : 1 比例添加，並以磁石攪拌混合。(b) 再將溶劑 Water / NMP 以 1/1、1/2、1/3 三種比例混合。(c) 取 20ml 之樣品平分別製備 2、4、6、8、10、12 wt% 之 Chitosan Solution 溶解於上述配置好之溶劑中，將其組成份標示於三相圖上，再觀察其溶解狀況，以虛線分隔 soluble 及 insoluble 區域。
- (f) 試驗動物狀況：採用 4 隻 2 歲左右，10-13 公斤來自屏東科技大學所提供之米格魯犬 (Beagle dog)，動物飼養/實驗場所在馬偕醫院之淡水分院動物房，飼養環境為室溫控制 16-22，濕度維持 50 ± 20%，燈光則每天有 12 小時亮，12 小時暗，採用不銹鋼籠之飼養容器並上有標示卡，經過訓練的飼養管理人員照顧。
- (g) 動物試驗之 animal model: 拔除下顎第二(三)小白齒和第一大白齒以創造製造缺損區所需空間，分別在左右下顎第一小白齒遠心側，第三小白齒近心側，第三小白齒遠心側及第二大白齒近心側製造寬 4mm、深 5mm，從齒槽脊中線往夾側，包含牙根的頰側面的 2-wall defect 的急性牙周缺損區之牙周缺損共八處，動物之使用及其需求數量：

1. 試驗組 Chitosan/PLA/NMP + 骨粉 x2
2. 控制組 Defect x1
3. 控制組 Defect + 骨粉(DFDBA) x2
4. 控制組 Atrisorb 商品+ 骨粉 x2

分別觀察手術後 1 週、4 週、和 12 週牙周組織再生及癒合狀況，組織切片觀察，動物實驗排程如下表所示

| | 7/7 | 7/1 | 7/2 | 9/1 | 9/8 | 9/15 | 9/22 | 9/29 | 10/6 | 10/1 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|
| D-1 | | | | | | 3 | S | | | |
| D-2 | | 4 | | | 4 | | | | S | |
| D-3 | 4 | | | 4 | | | | S | | |
| D-4 | | | 8 | | | | | | | S |

註：“4, 8” 樣品植入數；“SA” 動物犧牲

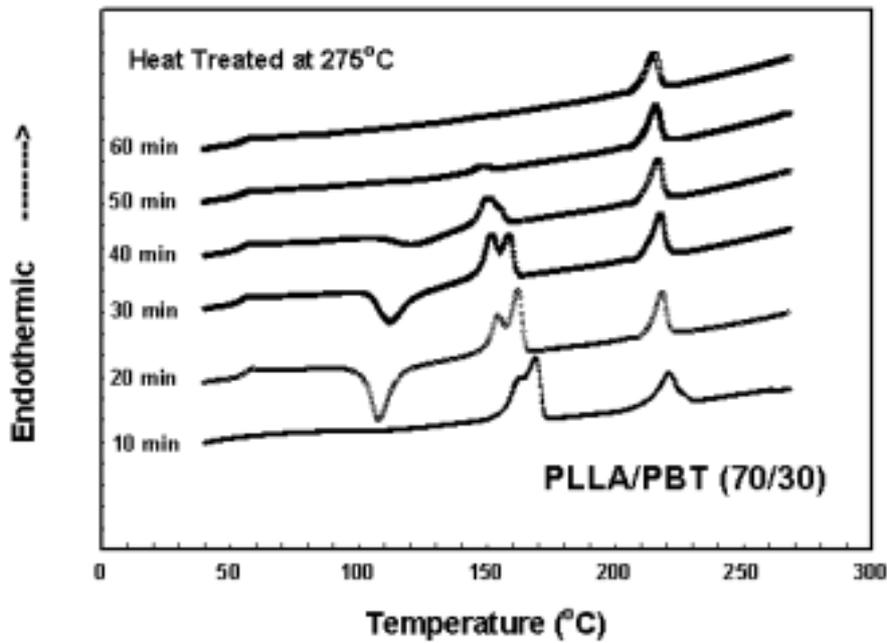
(h) 動物實驗手術步驟：實驗犬麻醉後以自然側臥方式，不需以其他方式固定，以 Atropine (1mg/ml) 依狗的體重 0.05mg/kg 進行麻醉前給藥，減少流涎。然後以 pentobarbital sodium (65mg/ml) 依狗的體重 20-35 mg/kg 靜脈注射進行實驗犬深度麻醉。實驗過程中生命徵候監控及紀錄，若實驗動物在實驗過程中承受劇烈痛苦則施打過量麻醉藥進行安樂死。實驗動物生病時須給予適當醫療。手術區域再給予牙科用局部麻醉劑 Scandonest 3 % 後形翻瓣手術後製造寬 3mm 深 5mm 的 2-wall 缺損區，之後按實驗設計給予不同的處置，接著縫合。術後再投與抗生素。術後餵以規則飲食。由於僅需作下顎組織學切片觀察，故先將動物以高劑量 Sodium Pentobarbital 全身麻醉後，再分別以生理食鹽水和福馬林灌流其頭頸部，最後取下其下顎作將來之組織學觀察。動物屍體由動物中心專人處理。

四、結果與討論

4.1 酯交換反應 (Transesterification)

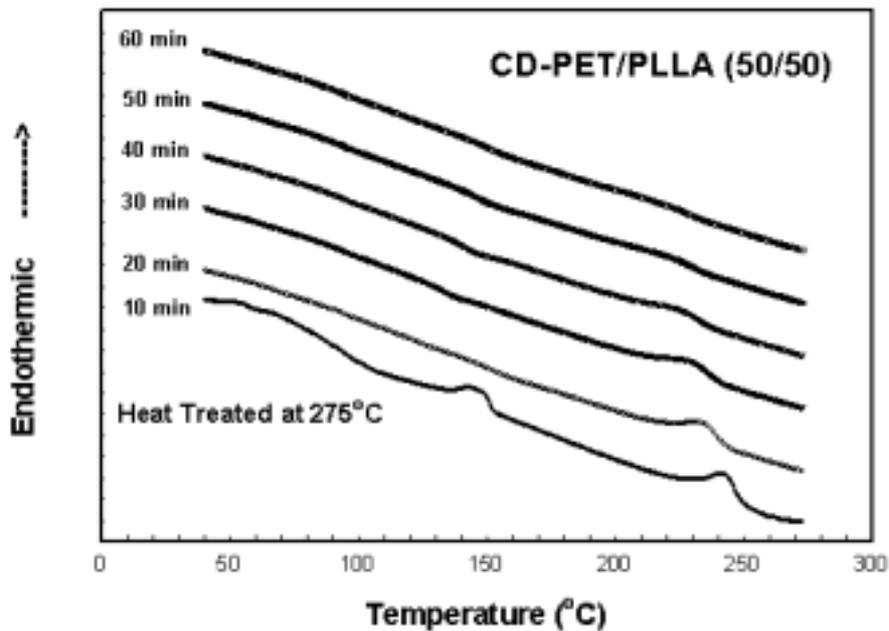
一般而言，不同之聚酯高分子在混摻時，熱力學上多呈現不相容之趨勢，圖一為以溶液混摻之 PLLA/PBT (70/30) 在 275°C 熱處理不同時間後之熱分析曲線，數據顯示熱處理時間在 10 分鐘時，其曲線呈現出 PLLA(Tm=170°C) 與 PBT(Tm=220°C) 各別之熔點，表示此二

高分子不相容之特性，而當熱處理時間增長後，PLLA 之熔點逐步下降，甚至消失，顯示 PLLA 與 PBT 間有化學反應作用存在，而不同熱處理時間後之 DSC 曲線，也反應出共聚物結構之變化。



圖一、PLLA/PBT (70/30) 在 275°C 熱處理不同時間後之熱分析數據。

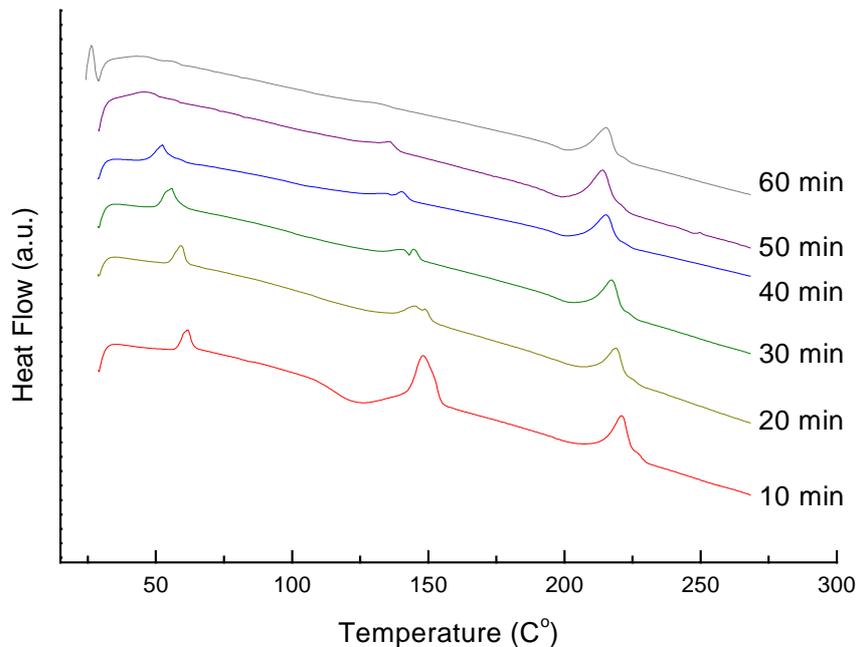
圖二為 CD-PET/PLLA (50/50) 在 275°C 熱處理不同時間後之熱分析曲線變化，現象上具備與 PLLA/PBT 相似之反應趨勢，但在反應時間增長後，快速之熔點下降與結晶熔解之吸熱面積縮小，顯示變隨著反應發生，結晶度也明顯下降。



圖二、CD-PET/PLLA (50/50) 在 275°C 熱處理不同時間後之熱分析數據。

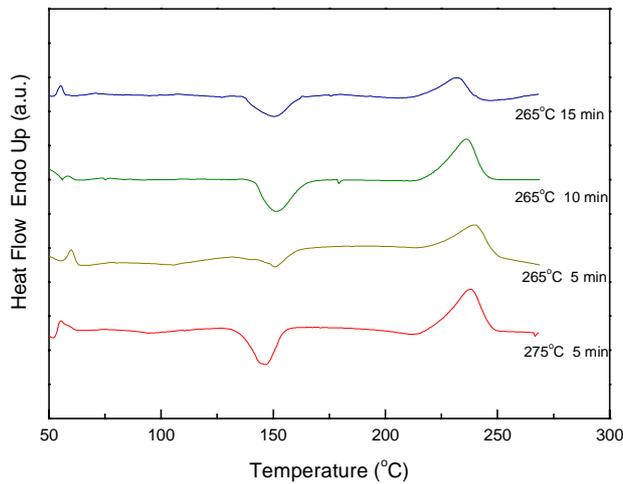
上述數據顯示，僅將溫度提高到熔點以上，持溫不同之時間，即可令原先本質不相容之兩種聚酯高分子，引發化學反應而形成上新的共聚物。相較於應用 DSC 之加熱裝置提供反應所需之溫度，在分子之混鍊加工上，除溫度效應外，以單螺桿攪拌機則可提供機械混合作用及高分子在熔融態攪拌中所引發之(Viscosity Heating)之昇溫效應，仍需賴實際之實驗操作，方能具體的瞭解反應之趨勢。

針對 PLLA/PBT 混摻系統，由於混鍊加工時 viscosity heating 之昇溫效應，故在選定較低之 250°C 下，將分別乾燥及依組成比例稱重後之 PLLA 及 PBT 樹脂，直接應用塑譜儀進行不同時間之混鍊加工，其結果如圖三所示，DSC 熱分析數據顯示 PLLA/PBT (70/30) 之組成，無論是以溶液或機械方式混摻，經酯交換反應後，聚合物的熔點均向低溫方向移動，尤其是在 PLLA 熔點中，吸熱曲線的面積漸漸下降，表示出 PLLA 和 PBT 混鍊至 60 分鐘後，漸成單一熔點而且結晶度亦下降之新共聚物。



圖三. PLLA/PBT (70/30) 在塑譜儀中，250°C 下，熱處理不同時間後之 DSC 熱分析數據。

圖四為 PLLA/CD-PET (60/40) 之酯交換反應，混鍊加工之溫度在 275°C，反應 5 分鐘後，由 DSC 結果顯示，反應後之生成物為僅有單一熔點(235°C)，而在昇溫至 145°C 時會出現再結晶現象之新材料，然而當在反應提高至 10 min 後，就混摻之聚合物即開始明顯裂解，雖然高溫有利於酯交換反應，但操作時間不易控制。若將反應條件降至 265°C，操作時間可延長到 15 min 左右，PLLA/CDPET 的混鍊物不至於裂解。另外由圖中所示，原來 PLLA 之 Tm 位置上的吸熱峰幾乎完全消失，這原因除了酯交換反應造成，另外也可能是由於水含量過高 (PLLA 乾燥後之水分率為 629 ppm)，導致在高溫下裂解。

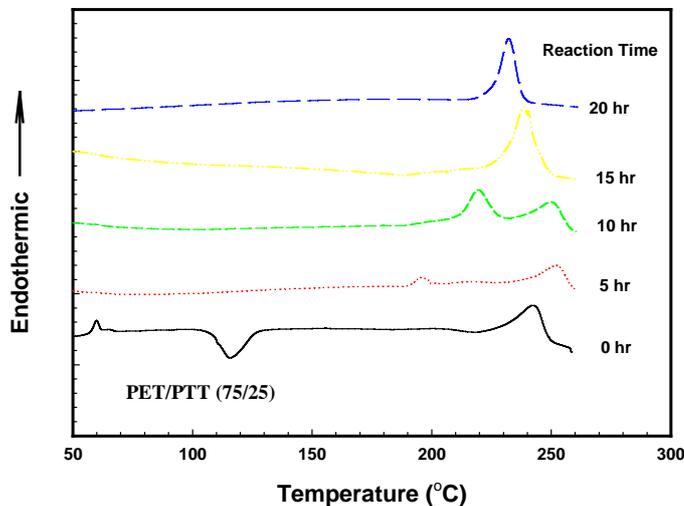


圖四、PLLA/CD-PET (60/40) 使用塑譜儀在不同溫度下，以不同時間熱處理後之 DSC 熱分析。

4.2 固態聚合反應(Solid-State Polymerization)

固態聚合反應，則是應用提高溫度與抽真空方式將聚合物中所殘留之縮合反應生成之小分子移除，而促使反應在固態形式下持續進行而提高分子量，由於反應係需以單體或水分之移除為前提，故在固體聚合物中擴散作用與結晶行為所影響之質傳效率則益形重要。

PET 與 PTT 之混摻加工係以單螺桿擠壓機，直接混鍊擠出與切粒，圖五則是選用 PET/PTT (75/25) 混摻之聚酯粒直接在 230°C，真空烘箱下，以不同聚合時間處理後之 DSC 熱分析曲線，而其熔點數據則匯整於表一，由 DSC 熱分析顯示 PET/PTT (75/25) 至接混鍊加工後之聚酯呈現單一熔點(242°C)，而熔點異於純 PET(260°C)及 PTT(220°C)，顯示熔熔酯交換反應之特徵，然而隨者固態聚合時間之增長，由單一熔點轉成代表相分離之雙熔點，最後再形成單一熔點上，此種現象可能與 PET 與 PTT 間之相分離與 PET/PTT 間之固態聚合機制相互競爭有關。



圖五、PET/PTT (75/25) 在 230°C，真空下，不同聚合時間處理後之 DSC 熱分析。

表一、PET/PTT (75/25) 在 230°C 真空下，不同聚合時間處理後，DSC 熱分析之熔點彙整。

| (PET/PTT) | 75/25 | | | | |
|-------------------------|-------|---------|---------|------|------|
| | 0 h | 5 h | 10 h | 15 h | 20 h |
| 1 st Run () | 242 | 252 | 219/250 | 238 | 232 |
| 2 nd Run () | 232 | 245/251 | 243 | 230 | 223 |

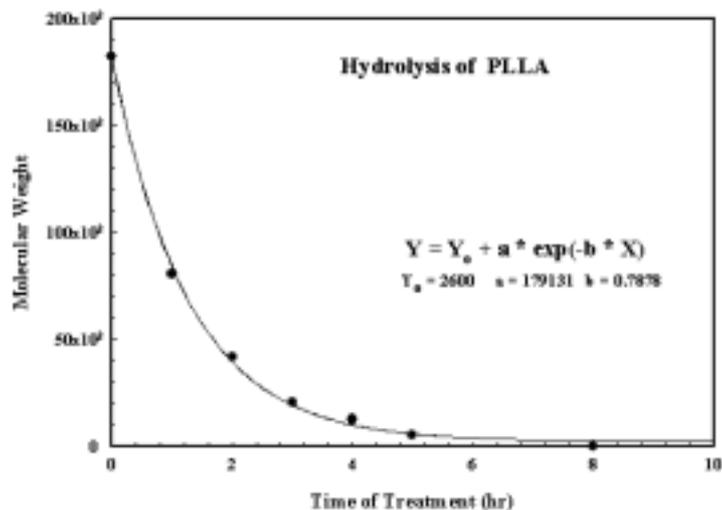
表二則是進一步將不同 PET/PTT 組成比例之混摻物進行固態聚合反應後，進行 DSC 熱分析後之結果匯整，由熱處理前後所呈現之熔點下降顯示出固態聚合進行之間接證據。

表二、不同 PET/PTT 組成在 230°C 真空下，不同聚合時間處理後，DSC 熱分析之熔點彙整。

| (PET/PTT) | 75/25 | | 80/20 | | 90/10 | | 95/5 | |
|-------------------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| | Untreated | 20 h |
| 1 st Run () | 242 | 236 | 242 | 230 | 243 | 241 | 251 | 244 |
| 2 nd Run () | 232 | 224 | 240 | 231 | 229/237 | 235 | 244 | 241 |

4.3 水解反應(Hydrolysis)

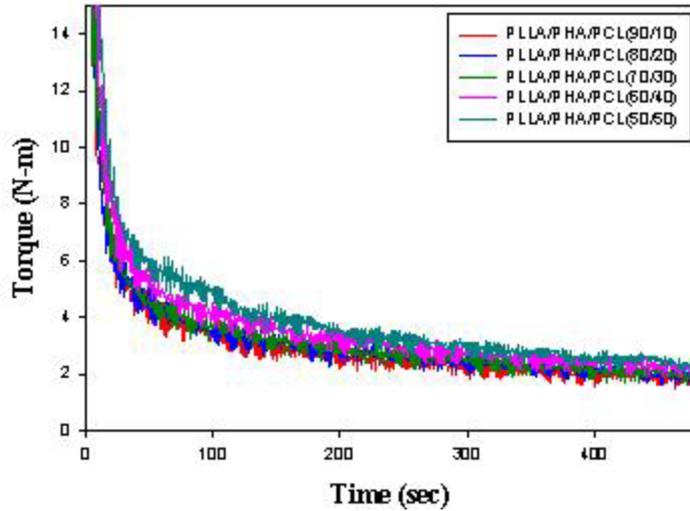
水解反應本質上為聚酯縮合聚合之逆反應，故對聚酯高分子之加工其原料中之水分控制格外重要，而此一水解反應如能經系統化之研究，亦可轉化為調節聚酯高分子之分子量之應用，圖六為以 PLLA 為 Model system，在 121°C 下不同水解時間處理後之分子量變化。而數據可以進一步套用 Exponential Decay Function 進行回歸分析，而得到水解處理時間與 PLLA 分子量變化之關係。



圖六、PLLA 在 121°C 下，在不同水解時間處理後之分子量變化。

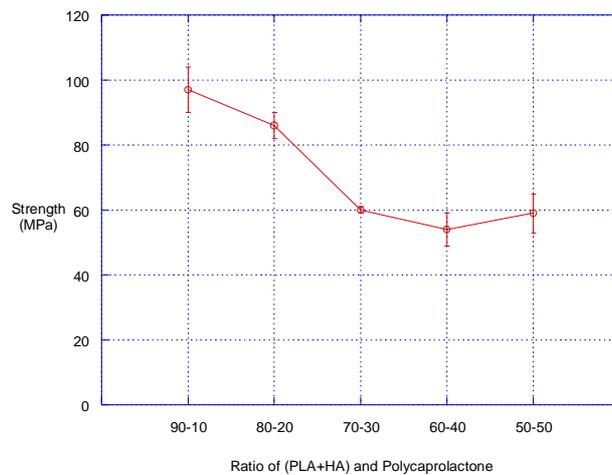
4.4 PLLA/HA/PCL 複合材之備製

在探討以熔融混鍊加工時較佳之操作條件時，由於涉及兩種或以上之高分子，因其二者之熔點或軟化溫度有差異，如何找出適當之加工溫度與時間則為製程開發之基本，圖七為 PLLA/HA/PCL 複合材在在塑譜儀中混鍊時，其扭力對時間之變化，數據顯示對不同組成份之配方在混鍊 8 分鐘後，其扭力值趨於穩定，為適合加工之時間。

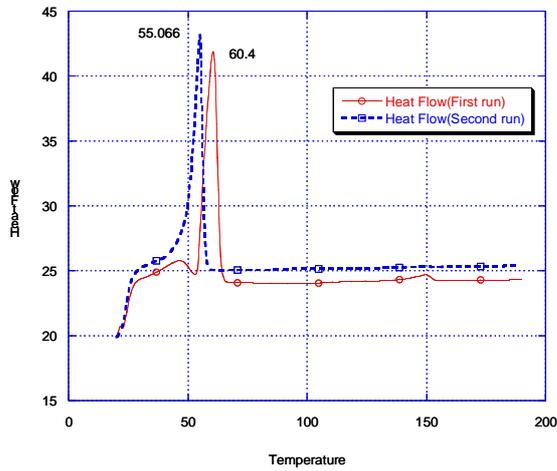


圖七、不同 PLLA/HA/PCL 組成份在塑譜儀中，扭力對時間之變化。

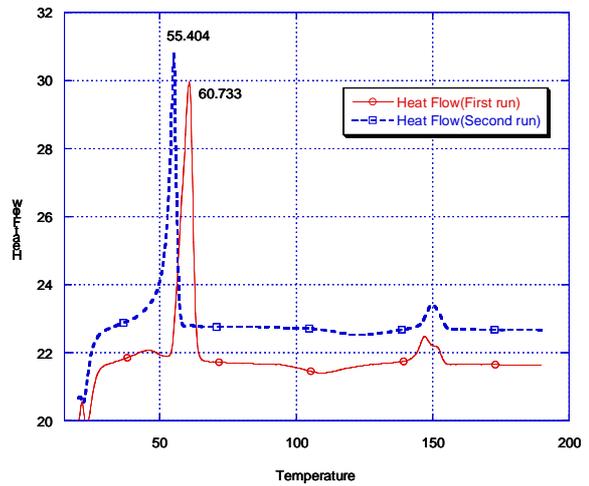
圖八為 PLLA/HA/PCL 組成份在 8 分鐘混摻時間後所備製試片之物性，在高 PLLA 含量組成份之呈現較佳之物性，當 PLLA 含量降至 70% 或更低至 50% 時，試片之 bending strength 物性趨於穩定。而圖九為不同(PLA+HA):PCL 組成份之熱分析數據，由 DSC 數據之 1st -scan 與 2nd-scan 之熔點由 60°C 降至 55°C 之變化顯示，可能與可吸收性材料之熱裂解性質有關。



圖八、不同 PLLA/HA/PCL 組成份在混摻所備製試片之物性



(PLA+HA) : PCL = 10:90

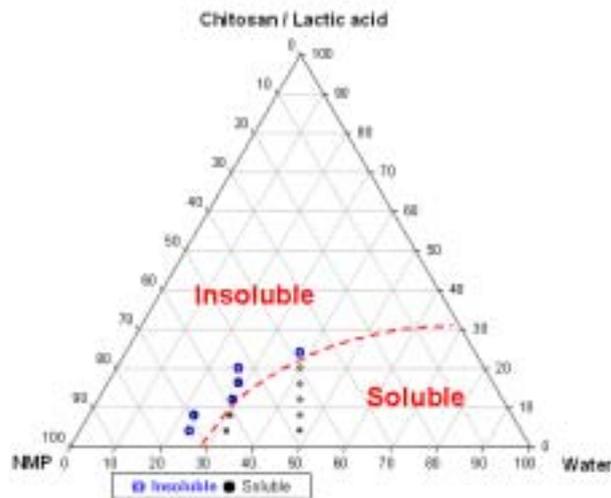


(PLA+HA) : PCL = 30:70

圖九、(PLA+HA):PCL 之熱分析數據

4.5 Chitosan 溶液之配製與相行為

為將具抑菌性之幾丁聚醣 chitosan 與 PLLA/HA/PCL 基材複合，得到良好之附著性與控制成膜後之孔洞大小，由於 Chitosan 可溶於弱酸中，今選用 Lactic acid 為溶劑，將 Chitosan 溶解成鵝黃色透明液體，再將配置好的溶解完成 Chitosan 溶液，加入不同比例之 NMP 溶劑，利用磁石攪拌均勻混合後觀察其靜置後溶液是否有沉澱物析出，據此判斷其溶液之相行為，圖十則為 chitosan 溶液之相圖。



圖十、Chitosan in Lactic acid / Water / NMP 之 Phase Diagram

4.7 PDLLA / Chitosan 溶液之配製

本研究藉由 Ternary Phase Diagram 可瞭解其 PDLLA 及 Chitosan 在 Water 及 NMP 兩種溶劑下之比例關係，經由兩溶液配製比例，以 8% 之 Chitosan 溶液進行配置後其混合液大

都會有鵝黃色析出物沈澱，並且考慮到其 pH 質較為低(=4.64)，對於細胞組織可能造成影響。而以 4%之 Chitosan 溶液配置後會有透明析出物沾黏在瓶壁上，而析出量的多寡如下圖十一觀察比較過後，其 No.4 之析出物較其他配比來的少。並且因材料最終至於體內後以溶劑完全去除為前提，其 No.4 之 Chitosan 所佔的比例約為 0.08%，相較於其他組別也來的較低。

因 PDLLA 本身為疏水性(hydrophobic) 而 Chitosan 為清水性材料(hydrophilic)，本身兩種不同性質的材料來進行混合不易，但因分子間會有某種程度上因遮蔽效應的平衡相態，而經過此試驗後可推測其配置方法以 4% Chitosan Solution 與 55% PDLLA Solution 以約 1/90 比例混合，可配置出在經過水洗溶劑完全去除後其 Chitosan 的含量為 0.08%。



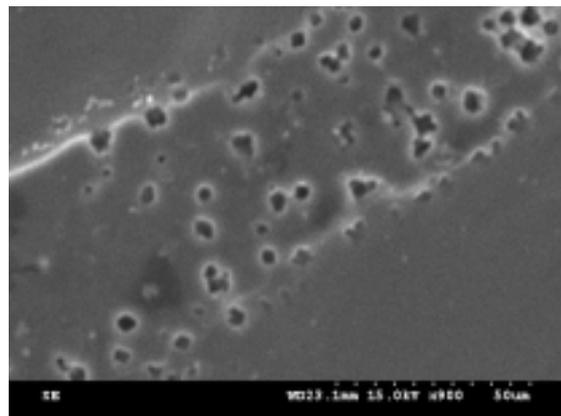
(a) Chitosan / PDLLA = 1/87



(b) Chitosan / PDLLA = 1/69

圖十一、Chitosan / PDLL 溶液之配製混合比例與相容性之關係

將材料進行乾燥後在經由 SEM 觀察(如下圖)，可發現其表面較平整並且孔洞分佈並非均勻，其孔徑範圍約 10~100 μm 。



圖十二、Chitosan / PDLL 薄膜之 SEM 照片(900x)

4.8 機能性 GTR barrier 之動物試驗

圖十三及十四為 GTR barrier 動物試驗之照片與手術過程，由於本試驗之動物 defect model 之建構超過計畫所預期，動物試驗剛完成動物之犧牲，進一步之樣品備製、切片、與組織學研究將於 12 月完成。



圖十三、GTR barrier 植入操作之動物試驗流程



圖十四、GTR barrier 樣品植入之相對位置

5 結論

本研究分別採用不同之聚酯高分子混摻系統探討酯交換、固態聚合、及水解等三反應特性，以呈現此反應所具備之普遍適用性，酯交換反應提供一結合不同聚酯高分子特性之途徑，並降低反應物之結晶度，而固態聚合對單一成分之聚酯可以提昇其分子量，而能有有效的提昇機械強度，而如本研究所採用不同聚酯之混摻系統，亦可促進不同聚酯間之反應，最後在 PLLA 之水解上，則是示範出聚酯高分子分子量之可調節性，初步完成聚酯高分子物化性之製程核心技術建立。

PLLA/HA/PCL 可透過熔融加工之方式成型，輔以 chitosan/PLA 溶液，配合所建構之相圖，可控制固化之過程，而在乾燥後可得大小 10 – 100 μ m 範圍之孔洞，顯示 GTR 膜片備製之可行性，然而在動物試驗之評估上，由於 defect 模式之建立上，為考量牙周病本身為長期之 chronic effect，故在動物之齒槽骨上以人工方式製造 defect 時，為減少動物體本身

因 acute reaction 之發炎反應影響正常之癒合速率，而降低評估之可信度，故在先期製造大範圍之 defect 後，多等 2 個月再植入樣品，以減少發炎反應之干擾，故在研發時程上與原先之規劃有差距。

致 謝

感謝長庚大學化工系高分子物性實驗室邱方道教授在塑譜儀混鏈加工之操作協助。

參考文獻

1. 侯連團，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又侵犯病例報告”，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屢復治療：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，傅鏐，“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).