

# Microspheres(塑膠載體)對酸鹼值的敏感性

高中組 第三名

縣市：高雄市

校名：道明中學

作者：李曉廬

指導教師：林協輝



李曉廬，就讀於高雄市私立道明中學。對自己周圍的環境十分有興趣，喜歡看書，看電影，聽音樂，她不單是對科學有興趣，對拉丁文，英文等語言及世界歷史都有相當程度的熱忱。她對自己未來的期許是能以笑容面對每一天。

**關鍵詞：**PMMA/DVB，Microspheres，Polymer，Restenosis，Drug，Delivery

## 一、研究動機

隨著製藥工業之發展及生活品質之提升，高療效及低副作用之藥物劑型已成為消費者主要的訴求，藥物控制釋放技術提供從事製藥技術開發研究者新的領域，包括在適當的時間、適當的藥量釋放，而不致在其輸送過程中產生不必要的支外反應；此外，一般藥劑在使用後常因快速的代謝而達到藥效極限，如欲維持較長時效必須多次使用，麻煩費時又不經濟。因此，發展出克服上述缺點的技術即為制放技術，藉此而可達到延長藥程，降低副作用及增強藥效之目的，本實驗欲研發一高分子載體來應用於控制釋放過程。各式材料目前已逐漸受到重視，又以蛋白質及塑膠材料，由於其良好的生物相容性質及生物可分解性，更為受到重視。

近年來，利用手術疏通血管的病病人數節節升高，但是手術疏通後，血管再次堵塞的人也不在少數，如果能用控制溶解速度的載體承載藥物，將之存放在心臟週邊的靜脈壁中，適時釋放出適量藥物，延緩脂肪沉澱，則疏通血管手術的效果可大幅提高。

## 二、研究目的

- (一)結合懸浮聚合法及乳化聚合法來製出適用之微載體。
- (二)探討不同因素對於所製作的微載體形成形狀大小之影響
  - 1.結合懸浮及乳化聚合法（於懸浮液中加入乳化劑再加以改良）
  - 2.懸浮液中攪拌速度。
- (三)利用pyrolysis(MS), GPC, TGA, DSC 來分析聚合體。(Tg,Tc,Tm, crystallinity, and components)
- (四)探討載體藥品膨脹過後之微載體表面之變化。
- (五)探討 PMMA/DVB 微載體是否能以穩定速率釋放藥品。
- (六)探討 PMMA/DVB 微載體對酸鹼值之反應。

## 三、研究設備

500ml三頸圓底瓶、攪拌／加熱器、氮氣筒、光學顯微鏡、照相機、培養皿、試管、Lopid、Hydroxyethyl cellulose(HEC)、Tween 20 (Surfactant)、MMA(Methyl Methacrylate)、Divinyl Benzene、2，-2 Azobis Isobutyronitrile、Methanol、電子顯微鏡、

PH7.25, 7.50, 7.0 buffer solution、Agar、結晶紫、冷凝管、溫度計、Acetone 丙酮、Sodium Hydroxide、濾紙、分光光度計、TGA(thermogravimetric Analysis)、DSC(differential scanning calorimetry)、THF(tetrahydrofuran)、Pyrolysis、Gel Permeation chromatography、Benzene

#### 四、研究過程

劑型類別	劑型要求	適用材料
經皮膚吸收劑型	與皮膚之親合性高 不刺激皮膚	P U或H E M A
皮下植入劑型	可為生物體分解或 不可分解，但須生 物相容性佳	矽膠或聚乳酸系列
肌肉或皮下植入劑 型	生物相容性佳且可 被生物體緩慢分 解，不會引起肌肉 組織發炎	CHITOSAN, ALGINATE 或聚乳酸等

本實驗首先選用可聚合成生物相容性良好的高分子材料之單體MMA，及最常用於聚合反應的起始劑 Azobis Isobutyronitrile，以使Monomer交連用之交連劑 Divinyl benzene 等藥材來做為聚合之主體，此實驗為乳化之自由機聚合反應。

##### (一)懸溶液的備製：

NaCl 之超飽和溶液在聚合反應之先準備好以確認其溶解之良好。在使用前先以紙濾過來把結晶之 NaCl 濾出，再加入 HEC (乙基纖維素)，及Tween 20 界面活性劑。 Tween 20 之主要目的為降低 HEC 及 MMA 之界面張力 (interface tension)。

##### (二)聚合過程：

將聚甲基丙烯酸甲酯 (MMA) 單體，DVB (Divinyl benzene) 交連劑，及預先以溶好的 (25wt%) 之 AIBN (Azobis Isobutyronitrile), 起始劑混合。因NaCl 之超飽和溶液之密度 (density) 很高，使得要聚合的單體在攪拌的過程當中懸浮於NaCl溶液中。

##### (三)Microspheres 之取出：

於上述反應發及產生Microspheres用離心儀將懸浮液及 Microspheres分開把懸浮液倒掉後，再加入蒸餾水與Microspheres再次混合，再用離心儀分離。此步驟將持續到分離出的水為透明的，(此一步之目的為將 HEC及Tween 20去除)。接著加入甲醇，把剩下的 AIBN萃取出來，再從離心管中將洗淨的 Microsphere倒入蒸發皿中放入烤箱烘乾。

##### (四)微載體在載入藥品後之變化

當一個玻璃態的高分子接觸水或其他良好溶劑時，溶劑的分子得以進入此高分子表面之分子鏈的自由體積(free volume)內，當水分子進入膠體會增加高分子鏈間之平均距離，此時便產生chain relaxation，大體上來說便是"膨潤"現象 (Davidson 1986)。將備製之微載體以雙面膠固定於鋁製樣品載台上，再送入真空蒸鍍器(Hitachi, IB-2, Japan) 中鍍金，鍍金完成的樣品，使用掃描式電子顯微鏡 (Hitachi, s-300, Japan) 觀察微載體小球之表面型態。

將藥品Lopid加入(甲醇)中使其溶解成為藥溶液，做好的微載體分為兩批，一批被放入藥溶液，這批microspheres 碰到藥溶液中的甲醇會產生膨潤，而把藥溶液吸入中心，而在甲醇蒸發後藥就留在載體中，此批載藥過之microspheres 及未經膨潤之microspheres 將電子顯微鏡下觀察其不同表面型態。剩下的藥溶液則等甲醇蒸發過後測量剩餘藥物之重量。

##### (五)微載體空隙度分析

將一克的微載體置於84 水中12小時後，取出放入冷水10 分鐘，用濾紙大略吸乾表面水分後稱重，扣除原始重量 (1公克) 即為水佔內部之體積，另外稱等重量1公克的微載體，放入冷水中，即以量筒測出其體積，微載體的空隙度可經由下式計算獲得：

$$\phi = \frac{V_r}{V_r + V_s}$$

$\phi$ ：空隙度

##### (六)GPC (Gel permeation Chromatography; Size Exclusion Chromatography)

為確定此生成誤為聚合物吾等定用polymer 應有的physical properties 來檢定，吾等首先由分子量著手。吾等將樣本用THF (tetrahydrofuran) 溶解之後將的樣本注入。

##### (七)Pyrolysis(分裂)

由於GPC結果吾等發現此聚合體在THF中十分難溶,吾等推斷此聚合物有高度之結晶度，由於此聚合物之主體PMMA為一 highly amorphous 無結晶度的polymer material 此現象十分奇怪。吾等決定用pyrolysis分析此樣本的成分來確認樣本是否是吾等所設計之PMMA/DVB聚合體。在真空的狀態下加熱使其分裂成pyrolysate 再用 mass spectrometer 分離pyrolysate (mass-charge ratio, m/z) 所做出的mass spectrum 輸入reverse fit factor 來鑑定成分。

##### (八)Differential Scanning Calorimetry (DSC)

在pyrolysis 後吾等發現聚合物的成分果真是PMMA及極少量的DVB,吾等對此聚合物的結晶度十分好奇決定用 Differential Scanning Calorimetry 來測其Tg。放入樣品盤中後以20.00degrees Celsius/min. 的速率加熱。

#### (九)Thermogravimetric Analysis(TGA)

為確定此聚合體之純度及Tm (熔點) 吾等用TGA從加熱至800 degrees Celsius 來測量 Tm 及純度。

#### (十)微載體釋放速率之穩定

如果此microspheres 之釋放速率有一定之穩定性，吾人更可以掌握藥物釋放的時間及量，吾人以為期10天的trial 來測量此 microsphere 在pH7.0溶液中，是否能夠以一定之速率來釋放藥品。30天後將這10組藥品用分光光度計(480nm)及沸點測量濃度。

#### (十一)微載體對酸鹼值的反應據

在PTCA (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty)疏通動／靜脈手術後，在癒合的血管壁之酸鹼值會在pH 7.0 ~ 7.50 之中作變化。本實驗對於這點而設計7.0，7.25，7.50酸鹼值之Agar模擬動脈壁環境，載入色素之microsphere將被載入10個pH 7.0，10個pH 7.25，10個pH 7.50之膠凝體。在72小時後收集色素釋放之資料，再用Fractals來計算。

## 五、結果／討論

(一)在無乳化劑之環境下所做出之聚合體並不呈微球狀而是薄片狀。吾人認為原因應為單體液並無被攪拌成微小的水珠懸浮在懸浮液中而是成一層膜浮在懸浮液上來聚合。Tween20 為o/w型乳化劑所以在NaCl溶液中攪拌會形成Micell(micelle)。此Micell為一球形結構，內部為疏水基。而HEC唯一親水物質，所以會吸附於Micell外部，強化其結構避免Micell互相碰撞而產生大量聚集及凝集現象。在空心內的 PMMA單體液又因為親油就會沿著微胞內壁之親油基排列(aggregation)，在被AIBN攻擊後開始聚合，形成鏈狀高分子物質 PMMA，此時交連劑DVB使鏈狀PMMA形成三度空間之網狀結構 (network)，此空心球體即 Microspheres微載體。

(二)由Gel Permeation Chromatography 吾等可以發現在被溶解在tetrahydrofuran中的樣品的分子量 (Mw; average molecular weight) 為2060; Mn(number average molecular weight) 為1908； polydispersity (Mw/Mn) 為1.079917； Polydispersity 十分接近1，表示所有高分子鏈的degree of polymerization很接近，表示各個高分子鏈中的單體數量幾乎相同。又此分子量相當小，吾等認為被溶解的樣品是介於高分子聚合物及單體之間的oligomer。而高分子聚合物並沒有被一般溶液(tetrahydrofuran, benzene, xylene, chloroform, dimethylformamide)溶解，吾等有兩種假設，一為DVB將PMMA的高分子鏈交聯過度而導致此聚合物(copolymer)無法用THF 等一般溶劑所溶，二為此聚合體結晶度很高所以THF不能將其溶解。又因為在設計時 DVB及PMMA之比值(molar)大約為 1: 100，及polydispersity又接近1，吾等推論第一個假設並不成立，而又因為聚合體之主要成分PMMA並不會結晶，而DVB雖有結晶度但是量又少，結晶度又不很高第二個假設也不是很有可信度，吾等懷疑聚合體的成分是否為PMMA及DVB所以利用pyrolysis的方式來鑑定。

(三)Pyrolysis(MS)及Reverse fir factor的結果顯示聚合體的成分為PMMA及DVB，此兩種成分的比值(100:1 or 2)很接近設計的比值(100:1)，表示此聚合物與設計的相差不遠。因為如此更使吾等好奇為什麼此聚合物如此難溶，所以決定用DSC來繼續分析。

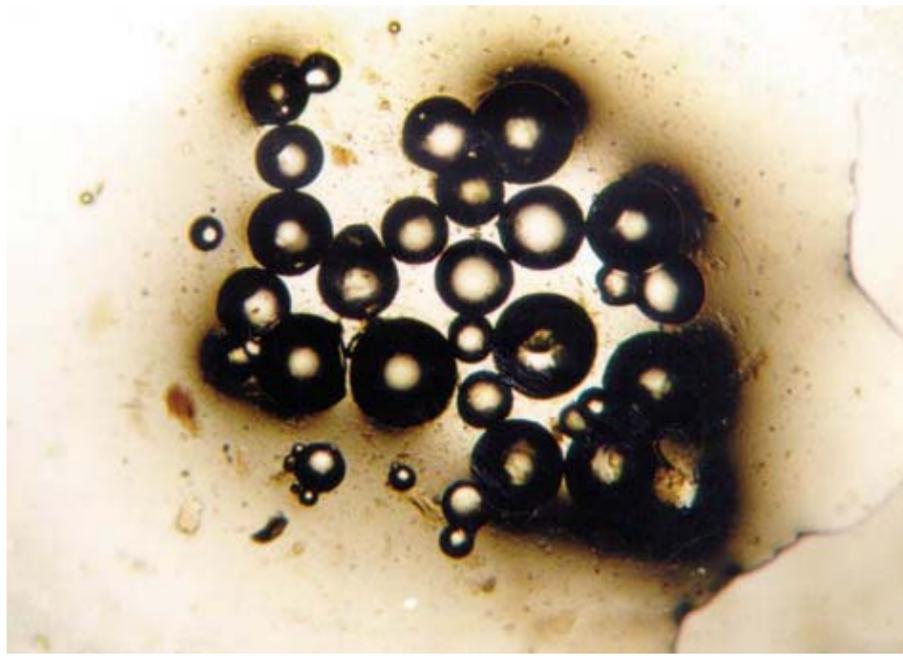
DSC 的結果顯示Tc為228°C，這個結果是相當耐人尋味的，因為一般PMMA的Tg 為 125°C，如此少量的DVB能使Tg一下子上升103°C。又DSC圖中樣本的曲線上升右下降又上升，表示到了約200°C時樣品盤下的加熱器為了保持一定上升溫度而加熱速率開始下降，換一句話來說，樣本開始放熱，通常溫度越高，樣本的Cp越高，曲線也會向上升。而此曲線下降表示在Tg前隨著溫度升高，高分子鏈的排列並不是越來越亂而是越來越整齊，為結晶體受熱反應，又在Tc後曲線又上升，此又為晶體融化之現象，此兩種現象表示此樣本有結晶的情形。

(四)TGA 的輸出圖告訴吾人樣品在268.176°C時產生分解，其分解為一步反應表示樣品的純度相當高，及此樣品耐高溫。此聚合物兼具amorphousness，結晶度，及耐高溫等物理性質。

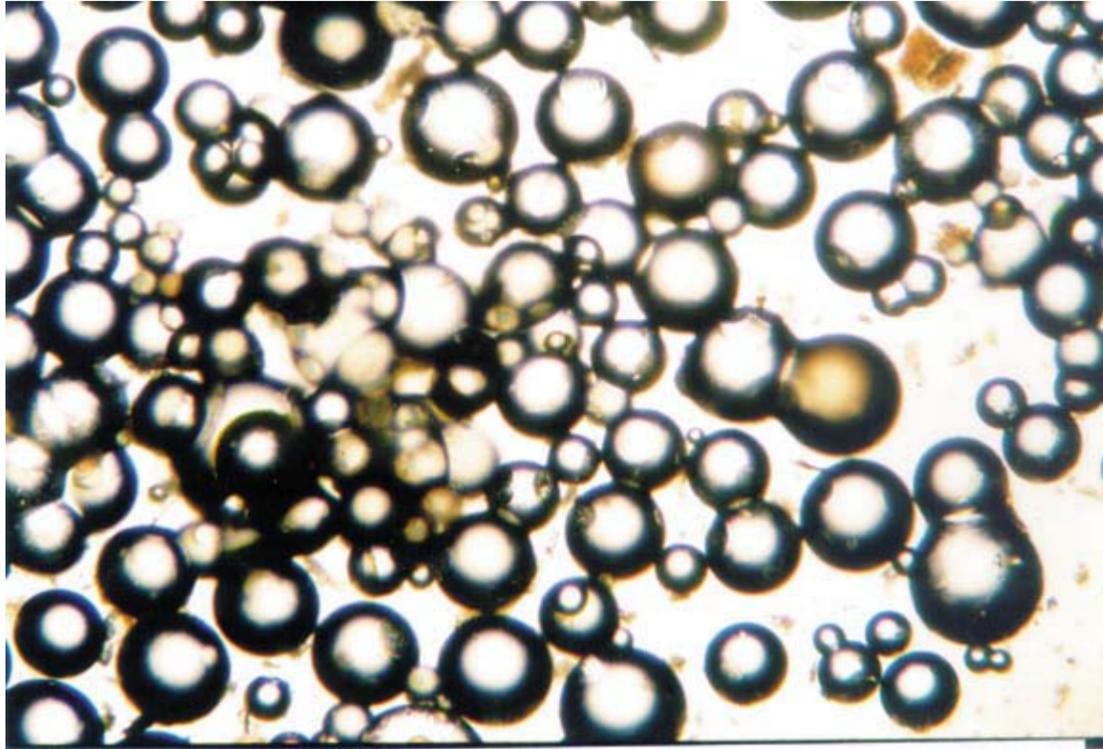
(五)由光學顯微鏡可以發現聚合過程中攪拌速率越慢，microspheres之粒徑大小不平均。有顆粒十分大的球體，也有顆粒十分小的球體。但是顆粒之形狀較聚合過程中攪拌速率快所製造的微球體渾圓且規則化。聚合過程中攪拌速率快的 microspheres 顆粒大小之分布較為均勻，但是顆粒之形狀並沒有向聚合過程中攪拌速率慢的圓，而有一點傾向橢圓。又發現攪拌速率太慢(Cimarec Thermolyne 攪拌器 stirring speed 1-3) 微載體容易粘在一起，但是攪拌速率太快 (Cimarec Thermolyne 攪拌器 stirring speed 9-10)又形狀會不規則，在Cimarec Thermolyne 攪拌器下最能兼顧產生規則化之顆粒，及大小均勻之速率大約為7。吾人認為攪拌速率快產生了較小且均勻的micell微胞，但是太快又會把微胞之形狀拉長導致於橢圓之microspheres。又認為攪拌速率慢時大的 micelle沒有被打散以致大小不平均。

(六)未膨潤之1克微載體體積0.80ml，經膨潤後為1.78克，又因水之比重為1，帶入算式後發現微載體的空隙度為0.49 (49%)，即在微載體中49%為空心。

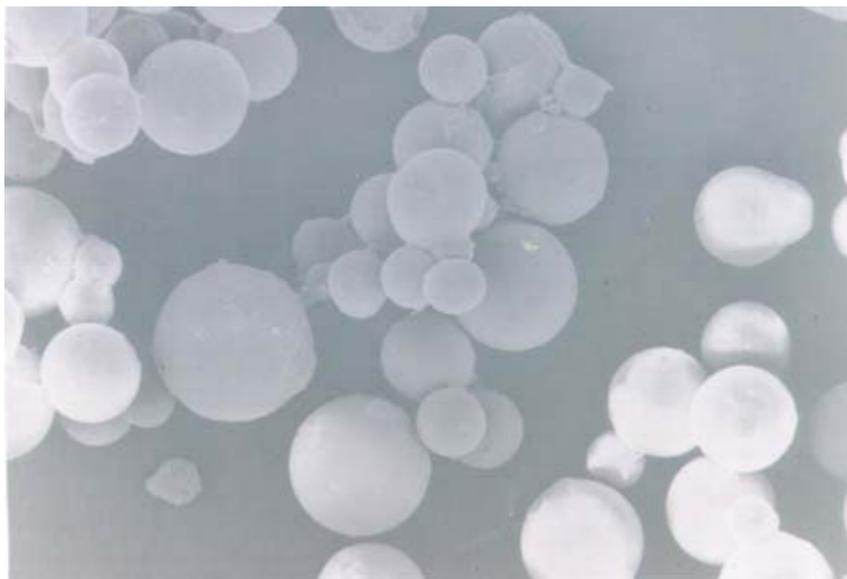
(七)在電子顯微鏡吾人可以清楚的發現載入藥品，經過膨潤作用的microspheres 表面 (surface) 明顯的比未載藥之microspheres粗糙，高分子鏈之構造也較清晰。在放大5000倍下，經過膨潤作用的microspheres表面有微小的孔而未載藥之microspheres則無。又未載藥之microspheres表面明顯的比較平滑。剩下的藥溶液中發現了2.34g之藥物，也可以說12g的microspheres在24wt%藥溶液中可吸入9.66g之藥物，平均每g之microspheres可吸入0.81g之lipid。吾人認為此結果有探討，因為實驗器材之精確性，及藥物在蒸發過程中有可能被蒸發中的甲醇帶走而使得實驗結果受影響。



stirring speed 3 400X



stirring speed 7 400X



50X under SEM



1000X under SEM



5000X under SEM

(八)再測量沸點時發現平均沸點為100.16 degree Celsius. 用 $T_b = Kbm$ 來算時發現平均濃度為.31m。吾人認為為了改良此實驗及得到更明確的結果，以光譜所呈現的濃度結果為佳。由沸點來看PMMA/DVB Microspheres 具穩定性但仍需要繼續實驗更切確的來證實。資料顯示在十組pH 7.0膠凝體中平均色素擴散比值(ratio; 擴散面積/微載體最大切面面積)資料數據顯示在十組PH 7.0膠凝體中平均色素擴散比值為32(32.3%).在PH 7.25膠凝體中平均色素擴散值是35(34.8%).在十組PH 7.5膠凝體中平均色素擴散值則為38(38.4%). 總計三十組的膠凝體中的微球體之平均直徑為0.58mm,平均擴散值為35%。越鹼性之膠凝體中的微載體釋放速率越快。可歸納成大約平均擴散值 $= (12 * \text{直徑} - 52) / 100$  ( $y = (12x - 52) / 100$ )。

## 六、結論

(一)本實驗發現微載體之大小及形狀與聚合過程中攪拌速率有絕對影響。這點對於懸浮聚合法來製造microspheres十分有幫助。如果希望有特定大小的微載體則用較慢速率在用過濾的方式將大小不同之microspheres分開。希望能夠繼續推展及加入懸浮液容量，溫度等變數來研究變速對於微載體大小及形狀之影響和進而推出定論。

(二)乳化劑對於懸浮聚合有不可抹煞之幫助，有助於製造聚合良好球狀之微球體。可以依單體液對懸浮液之關係調整界面活性劑之種類(tween, tween40, tween60, tween80)。如PMMA十分親油，吾人便選用最為親油之tween 20。

(三)PMMA/DVB 微載體對酸鹼度有一定之敏感釋放速率會隨著動脈之酸鹼度而變化，對PTCA手術後之動脈不適用。

(四)因經過膨潤之microspheres表面因為漲大而有微小孔，可以考慮用surface modification來再表面附著一層半透膜來加強其穩定性。

(五)聚合體是可塑性非常高之材料在目前材料工程(Materials engineering)為熱門的研究題材，本實驗之微球形聚合體對醫藥界應可有所貢獻，不但可以用於血管，甚至癌症之基因治療法，還可以用於光電。

(六)在這資訊發達的時代吾等不斷的尋找良好的光電材料，polymer為光纖材料之一，此聚合體之T<sub>g</sub>及T<sub>m</sub>均十分高，又PMMA為一amorphous聚合體，又是透明的，成本相當低，本實驗所設計之聚合過程簡易，目前正努力於提高T<sub>g</sub>及T<sub>m</sub>(耐熱力)來使其更適用於光電界，由於日前所有品質良好光纖材料價格均為偏高，如能達成此目標將能降低光纖材料的價格使光纖資訊技術的傳播更為普遍。

## 七、參考文獻

- 糜福龍(1997)；幾丁聚醣應用於藥物及疫苗傳輸系統之設計及研究；台灣；國立中央大學博士論文  
Dunn L. Richard; Ottembrite M. Raphael(1993)Polymeric Drugs and Drug Delivery Systems, Washington, D.C: American Chemical Society  
Guiot Pierre; Couvreur Patrick(1986)Polymeric Nanoparticles and Microspheres Boca, Florida: CRC press  
Loyd-Jones J.G; Johnson P.,(1987)Drug Delivery System. Chichester, England: Ellis Horwood Ltd.  
Ottembrite Raphael M.; Hang Smauel J.; Park Kinam:(1996)  
Hyrogels and Biodegradable Polymers for Application. Washington DC; American Chemistry Society  
Park Kinam; Waleed S. W. Shalaby; Haesun Park  
(1993) Biodegradable Hydrogels for drug delivery Texas: Technomic Publishing Company Inc.  
Suh H; Jeong B; Rathir; Kim SW(1998)Regulation of smooth muscle cell Proliferation using paclitaxel Loaded poly-nanospheres Biomedical Material Research, vol.42(2), pages 331-338  
Valero F; Hamon M; founrier C; Meurice T; flautre B; Van Belle E; Lablanche JM; Gosselin B; Bauters C; Bertrand M(1998)  
Intramural Injection of biodegradable microspheres as a local drug delivery System to inhibit neo-intimal thickening on rabbit model of balloon Angioplasty Cardiovascular pharmacology vol31(4).Pages 513-519  
Wei Lei.(1995)Development of styrene- co-N, N- dimethylaminoethyl Methacrylate Hydrogel microspheres for pH-sensitive controlled drug Release Gainesville: University of Florida

## 評語

本作品以suspension emulsion polymerization製備具吸收性之PMMA創意性極佳，PMMA microsphere在酸鹼度中的釋放速率研究亦具創意，作者對研究態度執著，努力嘗試錯誤，終能達成實驗之目標，故予推薦。

作者可繼續在PMMA sphere之基本性質的確認(如分子量、反應條件對粒徑影響等等)將可使本作品更完整。

[回到目錄頁../Index.htm](#)