

The Study of Drug Delivery Behavior of Electrolyzed Chitosan Product

葉淑芬、? ; 耀國

E-mail: 9300014@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Chitosan powder was dissolved in acetic acid aqueous solution. Different amount of electrolyte was added to chitosan solution to form a electrolytic solution and controlled in different environment. After electrolysis, electrolytic products were found to be porous phenomena. This product were prepared for loaded protein to study the protein loading efficiency and release of electrolytic product. In the electrolysis, we found that the electrolytic rate increased as the concentration of the added electrolyte increased. SEM micrographs of porous products show that the porous phenomena increased as the concentration of the added electrolyte increased and decreased when the product was produced in the low pressure. The different protein loading efficiency and its cumulative release of products was increased as porous structures increased, so we propose that the adsorbable behavior of the electrolytic products with protein was on the surface porosity. The protein loading amount was increased as porous structures increased, and the cumulative protein release percentage was decreased as porous structures increased.

Keywords : chitosan ; BSA ; insulin ; drug release ; electrolysis

Table of Contents

| | | | |
|-----------------------------------|-----|---------------------------|------|
| 目錄 封面內頁 簽名頁 授權書 | iii | 中文摘要 | iv |
|iv 英文摘要 | v | 誌謝 | vi |
|vi 目錄 | vii | 圖目錄 | viii |
|x 表目錄 | xi | | |
| 第一章 研究目的 | 1 | 第二章 文獻回顧 | 2 |
|2.1 幾丁質簡介 | 2 | 2.1.1 幾丁質與幾丁聚醣 | 2 |
| 2.1.2 幾丁質及幾丁聚醣之結構 | 3 | 2.1.3 幾丁質及幾丁聚醣之物化特性 | 5 |
| 2.1.4 幾丁類物質在生醫材料上的應用 | 6 | 2.2 藥物釋放控制 | 10 |
| 2.2.1 以幾丁聚醣製成之藥品型式 | 11 | 2.2.2 藥物釋放模式 | 12 |
| 2.2.3 幾丁聚醣於藥物釋放控制應用 | 13 | 2.2.4 使用於藥物釋放控制中之藥物 | 16 |
| 2.3 電解原理 | 17 | 2.3.1 幾丁聚醣之電化學文獻 | 18 |
| 2.3.2 幾丁聚醣之電解化學原理 | 19 | 2.4 蛋白質定量 | 20 |
| 2.4.1 紫外光吸收測定法 | 20 | 2.4.2 Lowry法 | 21 |
| 2.4.3 Biuret反應 | 22 | 2.4.4 BCA試劑 | 22 |
| 2.4.5 Bradford法 | 24 | 2.5 掃描式電子顯微鏡 | 25 |
| 2.6 UV-VIS分光光度計原理 | 26 | 第三章 實驗儀器與材料 | 27 |
| 3.1 實驗儀器 | 27 | 3.2 實驗試劑 | 28 |
| 第四章 研究方法 | 29 | 4.1 幾丁聚醣電解實驗 | 29 |
| 4.1.1 電解質效應研究 | 29 | 4.1.2 減壓環境實驗 | 30 |
| 4.2 SEM表面分析 | 32 | 4.3 藥物吸附實驗 | 32 |
| 4.3.1 藥物配製 | 32 | 4.3.2 藥物吸附 | 33 |
| 4.3.3 藥物配製 | 33 | 4.4 蛋白質檢量線製定 | 34 |
| 4.4.1 藥物配製 | 34 | 4.4.2 檢量線之製定 | 35 |
| 4.4.3 藥物配製 | 35 | 4.5 藥物釋放控制研究 | 35 |
| 4.4.4 藥物配製 | 35 | 4.5.1 藥物配製 | 36 |
| 4.4.5 單位幾丁聚醣電解產物重量之蛋白質吸附量 | 36 | 4.5.2 釋放實驗 | 37 |
| 第五章 結果討論 | 38 | 5.1 電解實驗 | 38 |
| 5.1.1 電解質效應之影響 | 38 | 5.1.2 控制低壓環境之影響 | 43 |
| 5.2 SEM表面分析 | 44 | 5.3 蛋白質分析試驗 | 48 |
| 5.4 幾丁聚醣電解產物蛋白質釋放實驗 | 56 | 第六章 結論 | 67 |
| 第七章 未來展望 | 68 | 參考文獻 | 69 |
| 圖目錄 圖2.1 幾丁質、幾丁聚醣以及纖維素之化學結構 | 4 | 圖2.2 幾丁質生物體內的排列方式 | 5 |
| 圖2.3 BCA結構式 | 23 | 圖2.4 CBG結構式 | 24 |
| 圖2.5 分光光度計之基本設計 | 24 | 圖4.1 電解裝置 | 31 |
| 圖5.1 含不同氯化鈉克數之幾丁聚醣電解產物 | | | |

| | |
|---|--|
|42 圖5.2 SEM分析不同電解產物之表面型態..... | 45 圖5.3 在280 nm下之BSA檢量線 |
|49 圖5.4 在595 nm下之BSA檢量線 | 51 圖5.5 在595 nm下之BSA檢量線 |
|52 圖5.6 在595 nm下之insulin檢量線 | 54 圖5.7 在595 nm下之insulin檢量線 |
|55 圖5.8 不同電解產物於不同時間之BSA釋放量 | 58 圖5.9不同電解產物於不同時間之BSA釋放量 |
|59 圖5.10不同氯化鈉濃度之電解產物之BSA及insulin吸附量..... | 62 圖5.11 不同電解產物於不同時間之insulin釋放量 |
|64 圖5.12不同電解產物於不同時間之insulin釋放率 | 65 圖5.13電解產物與BSA及insulin之吸附情形 |
|30 表5.1 BSA 及BSA與酸混合之吸收峰波長 | 40 表5.2 不同電解產物之BSA吸附量 |
|57 表5.3 不同電解產物之insulin吸附量 | 61 表5.4 不同氯化鈉濃度之電解產物之BSA及insulin吸附量..... |
|63 | |

REFERENCES

1. 王三郎 (2000), 水產資源利用學, 高立圖書公司。
2. 王正一、林峰輝 (2000), 生醫材料概論, 教育部醫學工程科技教育改進計劃, 台北, 44 - 45。
3. 田福助 (1988), 電化學基本原理與應用, 五洲出版社, 台北, 11 - 20。
4. 生物技術產業資訊叢書 (1989), 藥物控制釋放劑型技術與市場分析, 財團法人生物產業資訊叢書。
5. 邱少華 (2000), 幾丁聚醣在藥物控制釋放上的應用以及其微膠囊製備的技術, 生物資源 生物技術, 2 (3), 19-23。
6. 吳永志、陳松青、林宥欣、梁祥發、糜福龍、宋信文 (2003), 水溶性幾丁聚醣酸鹼應答型水膠之製備及其蛋白質藥物包覆與制放行為探討, 第二十六屆高分子研討會。
7. 吳襄、林坤偉 (1994), 生理學大綱, 藝軒圖書出版社, 台北, 44 - 45。
8. 李安榮、鄒台黎 (2000), 新編藥物學, 永大書局有限公司, 台北, 38。
9. 林佳奴、張曉婷、吳柏昇、林睿哲 (2001), 幾丁聚醣於生醫材料之應用與特性, 化工, 48 (2), 84-91。
10. 林錫杰 (2000), 幾丁質在環保方面之應用, 食品技術, 32 (7), 27-33。
11. 林睿哲、莊文喜 (2000), 血液相容性高分子生醫材料, 化工技術, 8 (10), 230-240。
12. 胡孝光 (2003), 聚乳酸 / 聚離胺酸上蛋白質吸附: 實驗與膠體模型, 第二十六屆高分子研討會。
13. 洪敏元、劉良慧、林育娟、何明聰、賴明華 (2000), 當代生理學, 華杏出版股份有限公司, 台北, 41 - 42。
14. 莊仲揚 (2002), 幾丁聚醣於生醫產業上的應用, 化工資訊, 16(4), 46-50。
15. 莊榮輝 (2000), 酵素化學實驗, 國立台灣大學農業化學系出版, 139 - 140。
16. 陳陵援 (1993), 儀器分析, 三民書局, 台北, 51-71。
17. 陳美惠、莊淑惠、吳志津 (1999), 幾丁聚醣的物化特性, 食品工業月刊, 31 (10), 1-6。
18. 陳美惠 (2000), 幾丁聚醣之抑菌作用, 食品工業月刊, 32 (4), 29-38。
19. 陳慶鴻 (2000), 幾丁聚醣在藥物運送系統上之應用, 食品工業月刊, 32 (4), 18-28。
20. 陳家全、李家維、楊瑞森 (1991), 生物電子顯微鏡學, 國科會精儀中心編印, 109 - 131。
21. 黃金湖 (1989), 實用生化工技, 藝軒圖書出版社, 台北。
22. 黃蔭樺、翁鵬傑等 (2000), 哈伯氏生物化學 (下冊), 藝軒圖書文具股份有限公司, 台北, 792 - 814。
23. 張根源 (2001), 智慧型料之生物醫學應用, 化工, 48 (2), 53-61。
24. 張以慈 (2002), 以電解法電解幾丁聚醣之產物特性探討, 大葉大學食品工程學系碩士論文, 34 - 35。
25. 楊禎明、林浩慈 (2001), 含肝素的改質熱可塑性橡膠在血液相容性的研究, 化工, 48(2), 78-83。
26. 劉興華、陳思萍 (1996), 簡明藥物學, 華杏出版社, 台北, 11 - 12。
27. 趙承琛 (1995), 界面科學基礎, 復文書局, 台南, 54 - 60。
28. 熊楚強、王月 (1996), 電化學, 文京圖書有限公司, 台北。
29. 蘇遠志 (2001), 幾丁質與幾丁聚醣之機能及其有效利用, 生物資源 生物技術, 3 (2), 6-19。
30. 關山璋 (1998), 淺談骨科生醫材料之展望, 工業材料, 4(136), 81-84。
31. Ageev, Y. P., M. A. Golub, and G. A. Vikhoreva (1999), Stochastic autooscillations of electrical conductivity of chitosan films swelled in water, *Materials Science and Engineering*, C 8-9, 373-376.
32. Calvo, P., R. L. Carmen, L. V. J. Jose, and J. A. Maria (1997), Chitosan and Chitosan / Ethylene Oxide - Propylene Oxide Block Copolymer Nanoparticles as Novel Carriers for Proteins and Vaccines, Plenum Publishing Corporation, 14, 431-1436.
33. Chang, K. L. B., and J. Lin (2000), Swelling behavior and the release of protein from chitosan — pectin composite particles, *Carbohydrate Polymers*, 43, 163-169.
34. Cooper, T. G. (1997), *The Tools of Biochemistry*, 36-64.
35. Kenji, S., H. Saimoto, and Y. Shigemasa (1999), Electric resistance of chitosan derivatives, *Carbohydrate Polymers*, 39, 145-150.
36. Khor, E., and Y. L. Lee (2003), Implantable application of chitin and chitosan, *Biomaterial*, 24, 2339-2349.
37. Koizumi, T., G. C. Ritthidej, and T. Phaechamud (2001), Mechanistic modeling of drug release from chitosan coated tablets, *Journal of Controlled Release*, 70, 277-284.
38. Kurita, K. (1998), Chemistry and Application of chitin and chitosan, *Polymer Degradation and Stability*, 59, 117-120.
39. Lorenzo, L. M. L., R. L. Carmen, L. V. J. Jose, and J. A. Maria (1998), Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 52, 109-118.
40. Lee, K. Y., S. H. Wan, and W. H. Park (1995), Blood compatibility and biodegradability of partially N-acylated chitosan derivatives, *Biomaterials*, 16, 1211-1216.
41. Lee, J. Y., S. H. Nam, S. Y. Im, Y. J. Park, Y. M. Lee, Y. J. Seol, C. P. Chung, and S. J. Lee (2002), Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials, *Journal of Controlled Release*, 78, 187-197.
42. Majeti, N.V., and R. Kumar (2000), The review of chitin and chitosan applications, *Reactive & Function Polymers*, 46, 1-27.
43. Marion, M. B. (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
44. Mi, F. L., S. S. Shyu, Y. B. Wu, S. T. Lee, J. Y. Shyong, and R. N. Huang (2001), Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing, *Biomaterial*, 22, 165-173.
45. Mi, F. L., Y. B. Wu, S. S. Shyu, A. C. Chao, J. Y. Lai, and C. C. Su (2002), Asymmetric chitosan membrane prepared by dry / wet phase separation : a new type of wound dressing for controlled antibacterial release, *Journal of Membrane Science*, 212, 237-254.
46. Murata, Y., Y. Kontani, H. Ohmae, and S. Kawashima (2002), Behavior of alginate gel beads containing chitosan salt prepared with water-soluble vitamins, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53, 249-251.
47. Park, Y. J., Y. M. Lee, S. N. Park, S. Y. Sheen, C. P. Chung, and S. J. Lee (2000), Platelet derived growth

factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration, *Biomaterials*, 21, 153-159. 48. Ramanathan, S., and L. H. Block (2001), The use of chitosan gels as matrices for electrically-modulated drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 70, 109-123. 49. Ruel, G. E., G. Leclair, P. Hildgen, A. Gupta, and J. C. Leroux (2002), Thermosensitive chitosan-based hydrogel containing liposomes for the delivery of hydrophilic molecules, *Journal of Controlled Release*, 82, 373-383. 50. Soane, R. J., M. Frier, A. C. Perkins, N. S. Jones, S. S. Davis, and L. Illum (1999), Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans, *International Journal of Pharmaceutics*, 178, 55-65. 51. Sundararajan V. M., and W. T. M. Howard (1999), Porous chitosan scaffolds for tissue engineering, *Biomaterials*, 20, 1133-1142. 52. Twu, Y. K., C. C. Ping, I. T. Chang and C. M. Shih (2002), *Advances in Chitin Science*, 5, 19-21. 53. Vandenberg, G. W., C. Drolet, S. L. Scott, and J. D. L. Noue (2001), Factors affecting protein release from alginate - chitosan coacervate microcapsules during production and gastric / intestinal simulation, *Journal of Controlled Release*, 77, 297-307. 54. Wang, K., Z. He (2002), Alginate - konjac glucomannan-chitosan beads as controlled release matrix, *International Journal of Pharmaceutics*, 244, 117-126. 55. Wang, X. H., W. J. Wang, Q.L. Feng, F. Z. Cui, Y. X. Xu, X. H. Song, and V. D. W. Mark (2003), Crosslinked collagen / chitosan matrix for artificial livers, *Biomaterials*, 24, 3231-3220. 56. Wei , Y. J., K. A. Li, and S. Y. Tong (1997), A liner regression method for the study of the coomassie brilliant blue protein assay, *Talanta*, 44, 923-930. 57. Zhao, F., Y. Yin, W. W. Lu, J. C. Leong, W. Zhang, J. Zhang, M. Zhang, and K. Yao (2002), Preparation and histological evaluation of biomimetic three-dimensional hydroxyapatite / chitosan-gelatin network composite scaffolds, *Biomaterials*, 23, 3227-3234.