



(21)申請案號：110144563

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 30 日

(51)Int. Cl. :	<i>C08K5/1545 (2006.01)</i>	<i>C08L29/04 (2006.01)</i>
	<i>C08L89/00 (2006.01)</i>	<i>C08K3/04 (2006.01)</i>
	<i>C08J3/12 (2006.01)</i>	<i>C08J3/20 (2006.01)</i>
	<i>A61L15/18 (2006.01)</i>	<i>A61L15/20 (2006.01)</i>
	<i>A61L15/24 (2006.01)</i>	<i>A61L15/32 (2006.01)</i>
	<i>A61L15/42 (2006.01)</i>	<i>B82Y30/00 (2011.01)</i>
	<i>B82Y40/00 (2011.01)</i>	

(71)申請人：劉子睿(中華民國) LIU, TZU-JUI (TW)

臺北市信義區信義路五段 150 巷 421 弄 4 號 4 樓

(72)發明人：劉子睿 LIU, TZU-JUI (TW)

(74)代理人：陳豐裕

(56)參考文獻：

CN 104645404A

CN 113355785A

審查人員：呂易理

申請專利範圍項數：2 項 圖式數：7 共 31 頁

(54)名稱

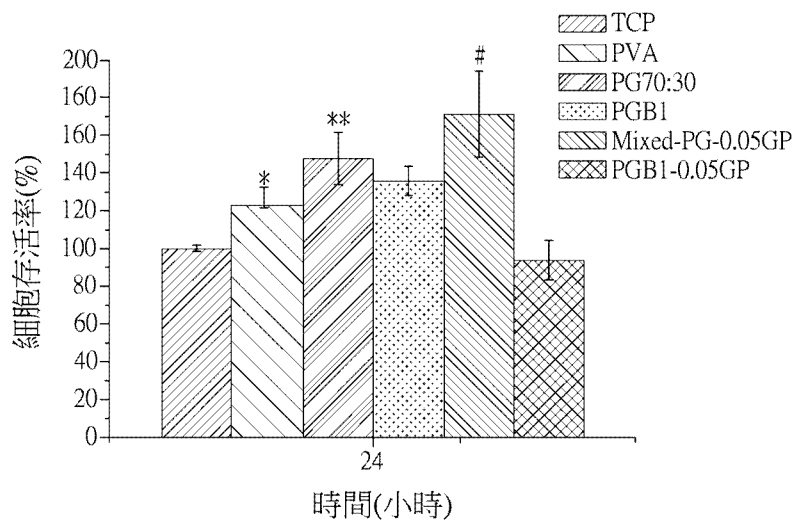
綠梔子素交聯聚乙醇醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法

(57)摘要

本發明關於綠梔子素交聯聚乙醇醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，係包含聚乙醇醇、明膠、竹炭奈米顆粒與綠梔子素，製備方法包含：步驟一，製備聚乙醇醇/竹炭奈米顆粒溶液，並於溶液中加入明膠且混合均勻，以獲得聚乙醇醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液；步驟二，於聚乙醇醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液中添加綠梔子素，混合均勻，以獲得聚乙醇醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液；及步驟三，將聚乙醇醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液倒入模具中，於 0-10°C 作用，以獲得綠梔子素交聯聚乙醇醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料。

The present invention discloses a genipin cross-linked polyvinyl alcohol (PVA)/gelatin/bamboo charcoal nanoparticles (BCNPs) composite which comprises PVA, gelatin, bamboo charcoal nanoparticles and genipin. Its manufacturing method comprises the steps of: step 1, preparing a PVA/BCNPs solution, adding gelatin into the PVA/BCNPs solution and mixing them thoroughly to obtain a PVA/BCNPs/gelatin solution; step 2, adding a genipin into the PVA/BCNPs/gelatin solution and mixing them thoroughly to obtain a PVA/BCNPs/gelatin/genipin solution; and step 3, pouring the PVA/BCNPs/gelatin/genipin solution into a mold and incubating at a temperature of 0-10 °C to obtain the genipin cross-linked PVA/gelatin/BCNPs composite.

指定代表圖：



第七圖



公告本

【發明摘要】

I792730

【中文發明名稱】

綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法

【英文發明名稱】

GENIPIN CROSS-LINKED POLYVINYL ALCOHOL/ GELATIN/ BAMBOO CHARCOAL NANOPARTICLES COMPOSITE AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

【中文】

本發明關於綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，係包含聚乙炔醇、明膠、竹炭奈米顆粒與綠梔子素，製備方法包含：步驟一，製備聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒溶液，並於溶液中加入明膠且混合均勻，以獲得聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液；步驟二，於聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液中添加綠梔子素，混合均勻，以獲得聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液；及步驟三，將聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液倒入模具中，於0-10°C作用，以獲得綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料。

【英文】

The present invention discloses a genipin cross-linked polyvinyl alcohol (PVA)/gelatin/bamboo charcoal nanoparticles (BCNPs) composite which comprises PVA, gelatin, bamboo charcoal nanoparticles and genipin. Its manufacturing method comprises the steps of: step 1, preparing a PVA/BCNPs solution, adding gelatin into the PVA/BCNPs solution and mixing them thoroughly to obtain a PVA/BCNPs/gelatin solution; step 2, adding a genipin into the PVA/BCNPs/gelatin solution and mixing them thoroughly to obtain a PVA/BCNPs/gelatin/genipin solution; and step 3, pouring the PVA/BCNPs/gelatin/genipin solution into a mold and incubating at a temperature of 0-10 °C to obtain the genipin cross-linked PVA/gelatin/BCNPs composite.

【指定代表圖】

第(七)圖

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法

【英文發明名稱】

GENIPIN CROSS-LINKED POLYVINYL ALCOHOL/ GELATIN/ BAMBOO CHARCOAL NANOPARTICLES COMPOSITE AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明有關於綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法，此複合材料可應用於製備傷口敷料。

【先前技術】

【0002】 以往傷口護理大多只使用紗布將收傷口覆蓋住，但是紗布容易沾黏在傷口，因次當紗布移除以清潔傷口以及換藥，會使傷口反覆受到刺激、且病人也會感到疼痛與不舒服。隨著生物組織工程的研發，也研發出不同的傷口敷料；應用於傷口護理或是組織再生的理想材料，應具有良好的生物相容性和可調控的降解能力，以及具有足夠的機械性能以提供細胞貼復生長的基質，除了保護傷口、吸收組織液之外，亦可保持傷口濕潤、提供上皮細胞良好的生長環境；目前敷料所使用的材料大多為高分子材料或生物組織材料，包含膠原蛋白、幾丁聚醣、纖維蛋白、彈性蛋白以及明膠；此外，目前也會在基底材料中添加其他物質以製作水膠復合物，例如添加不同的物質或是奈米分子，以提高敷料整體特性。例如中華明國專利第TW I694844(B)號公告案之硫化氫緩釋敷

料，便是將硫氫化鈉添加於水膠中，讓水膠體做為傷口敷料時可以緩釋出硫化氫，達到促進傷口癒合的功效。

【發明內容】

【0003】 今，發明人即是鑑於現有關於傷口敷料的相關研究仍有不足之處，於是乃一本孜孜不倦之精神，並藉由其豐富專業知識及多年之實務經驗所輔佐，據此研創出本發明。

【0004】 本發明提供一種綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，包含聚乙炔醇(Polyviny Alcohol, PVA)、明膠(Gelatin)、竹炭奈米顆粒(Bamboo charcoal nanoparticles)與綠梔子素(Genipin)。

【0005】 本發明亦提供一種綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的製備方法，包含：步驟一，製備聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒溶液，並於該溶液中加入明膠且混合均勻，以獲得聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液；步驟二，於聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液中添加綠梔子素，混合均勻，以獲得一聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液；以及步驟三，將聚乙炔醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液倒入模具中，並於0-10°C作用，以獲得該綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料。

【0006】 於本發明之一實施例中，綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的聚乙炔醇與明膠重量比為1:1~7:3。

【0007】 於本發明之一實施例中，綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料包含0.5~3 wt%竹炭奈米顆粒。

【0008】 於本發明之一實施例中，綠梔子素交聯聚乙炔醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料包含0.05~0.2 wt%之綠梔子素。

【0009】於本發明之一實施例中，綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的聚乙烯醇與明膠重量比為7:3，且包含1 wt%竹炭奈米顆粒，以及0.05 wt%之綠梔子素。

【0010】本發明之綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，降解率低、具有適中的膨潤度與良好的機械性質，且本發明之複合材料的生物相容性極佳，非常適合作為敷材使用。

【圖式簡單說明】

【0011】第一圖：聚乙烯醇/明膠複合材料的降解率與膨潤度分析圖。

【0012】第二圖：聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的降解率與膨潤度分析圖。

【0013】第三圖：綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠複合材料的降解率與膨潤度分析圖。

【0014】第四圖：綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠複合材料的外觀照片與交聯度分析圖。

【0015】第五圖：綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠複合材料的降解率與膨潤度分析圖。

【0016】第六圖：聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的細胞相容性分析圖(一)。

【0017】第七圖：聚乙烯醇/明膠/綠梔子素複合材料的細胞相容性分析圖(二)。

【實施方式】

【0018】 本發明之目的及其結構功能上的優點，將依據以下圖面所示之結構，配合具體實施例予以說明，俾使審查委員能對本發明有更深入且具體之瞭解。

【0019】 本發明揭露一種綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法，綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料包含聚乙烯醇、明膠、竹炭奈米顆粒以及綠梔子素，製備方法包含：步驟一，製備聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒溶液，並於該溶液中加入明膠且混合均勻，以獲得聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液；步驟二，於聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液中添加綠梔子素，混合均勻，以獲得一聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液；以及步驟三，將聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液倒入模具中，並於0-10°C作用，以獲得該綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料。

【0020】 聚乙烯醇含有許多氫氧基，且可與水形成氫鍵，親水性極佳，且具有高透氣性與高光學透明度，目前多用於製作人造皮膚或是隱形眼鏡，又因為植入生物體後不會有明顯異物反應，因此也能作為體外細胞或是軟組織的支撐材料，但是其生物降解性較低。

【0021】 明膠是胜肽與膠原蛋白質部分水解的混合物，通常是使用動物皮膚、肌腱、韌帶或骨骼製成，為帶淺黃色透明，無味的膠質，其在25°C以下會形成固態，而在25°C以上則形成液態；明膠目前已經應於製藥工業或是組織工程上，可提高細胞的附著力，但明膠型態容易受到溫度影響，因此常需要與其他材料製備成複合材料以提高其機械性質。

【0022】綠梔子素是從梔子(*Gardenia jasminoides*)果實萃取的產物，毒性極低，且會與明膠分子交聯而產生網狀結構，為一種天然的交聯劑；此外綠梔子素也去有都種生物活性，包含抑制發炎反應。

【0023】較佳的，本發明之複合材料中的聚乙烯醇與明膠重量比為1:1~7:3，包含0.5~3 wt%竹炭奈米顆粒以及0.05~0.2 wt%之綠梔子素。

【0024】此外，藉由下述具體實施例，可進一步證明本發明可實際應用之範圍，但不意欲以任何形式限制本發明之範圍。

【0025】一、複合材料的製備與性質測試

【0026】(一)、聚乙烯醇/明膠複合材料製備與性質測試

【0027】先將聚乙烯醇(後簡稱PVA)粉末加入10 mL去離子水中，並以180 rpm之轉速攪拌均勻，以獲得一PVA溶液；將PVA溶液放置於恆溫水浴槽中，使其溫度維持於80°C；於PVA溶液中加入明膠(Gelatin)粉末，獲得一混合溶液，再將混合溶液恆溫於80°C恆溫加熱1小時；將混合溶液放置入超音波洗淨機震盪處理15分鐘，以去除混合溶液中的氣泡，接著將混合溶液於室溫、以180 rpm之轉速持續攪拌1分鐘；最後將混合溶液倒入一直徑10公分的鐵氟龍圓盤，並將其放入4°C冰箱作用60分鐘，再將其取出並放置於抽氣櫃中自然乾燥，以獲得一PVA/明膠複合材料；上述製備的PVA/明膠複合材料，其中添加的PVA與明膠重量以及所製成的產物簡稱請參見表一，又此實施例中製成的複合材料呈現膜狀，將其簡稱為PG膜。

【0028】表一

簡稱	聚乙烯醇	明膠	去離子水
PVA	2000 mg	0 mg	10 mL

Gel	0 mg	2000 mg	10 mL
PG50:50	1000 mg	1000 mg	10 mL
PG60:40	1200 mg	800 mg	10 mL
PG70:30	1400 mg	600 mg	10 mL

【0029】 以下所實施例中的試驗都會進行五次的重複，再將測試結果以 JMP14.1.0軟體進行單因子變異數分析(one-way ANOVA)，事後分析採用Tukey變相比較法(Tukey HSD multiple comparison)，以探討各組別間的差異，P值小於0.05時表示各組之間具有統計上的差異。

【0030】 (1)、降解率

【0031】 降解率測試方法為：將乾燥後的膜材裁剪為大小1 X 2 cm²的片體，並秤量其重量，得到的重量稱為W₀；接著將片體浸泡於磷酸鹽緩衝液，並維持其溫度為37°C恆溫；於浸泡後的不同時間點將片體取出並冷凍，之後再以冷凍乾燥機將其進行抽真空以及冷凍乾燥，再將秤量冷凍乾燥後的片體重量，得到的重量稱為W_f，最後以下列公式得到片體的降解率。

【0032】 降解率= $[(W_0 - W_f) / W_0] \times 100\%$

【0033】 請參見第一圖(A)，為不同比例之PG膜的降解度測試結果，其中聚乙醇醇膜(PVA)作為對照組，圖中標記「*」代表相比其它組別呈現最高降解度(P<0.05)，標記「**」代表顯著高於PVA組和PG70:30組並且顯著低於PG50:50組(P<0.05)，標記「#」表示顯著高於PVA組但顯著低於PG50:50組和PG60:40組(P<0.05)；第一圖(A)顯示，PVA膜於浸泡24小時之後的降解率為21.5±0.03%，與其於浸泡168小時之後的降解率並無顯著差異；於浸泡168小

時之後，PG70:30膜的降解率為 $46.3\pm 0.2\%$ ，PG60:40膜的降解率為 $59.4\pm 2.2\%$ ，以及PG50:50膜的降解率為 $89\pm 6.2\%$ ，此結果顯示當PG膜中的明膠含量增加，其降解率也會增加。

【0034】 (2)、膨潤度

【0035】 測試方法為：將乾燥後的膜材裁剪為大小 $1 \times 2 \text{ cm}^2$ 的片體，並秤量其初始重量，得到的重量稱為 W_0 ；將片體浸泡磷酸鹽緩衝液，並維持其溫度為 37°C 恆溫；於浸泡後的不同時間點將片體取出，並使用無塵紙吸收片體表面的水分後並秤重，所得到的重量稱為 W_s ；將吸水後的樣本冷凍隔夜，再將冷凍後的片體以冷凍乾燥機進行抽真空以及冷凍乾燥，再秤量冷凍乾燥後的片體重量，得到的重量稱為 W_f ；以抽冷凍乾燥後的片體重量 W_s 以及冷凍乾燥後的片體重量 W_f 計算膜材的膨潤度，計算公式如下。

$$\text{【0036】 膨潤度} = [(W_s - W_f) / W_f] \times 100\%$$

【0037】 第一圖(B)為膨潤度分析結果，圖中標記「*」代表與其它組相比具有最高膨潤度($P < 0.05$)；第一圖(B)，所有組別的膜片在浸泡後的0.5小時都達到膨潤平衡，PG50:50膜的膨潤度是 $547.3\pm 32.3\%$ ，PG60:40膜的膨潤度是 $436\pm 24.1\%$ ，PG70:30膜的膨潤度是 $436.4\pm 7.8\%$ ，以及PVA膜的膨潤度是 $355.5\pm 31.2\%$ ，即膜材中的明膠含量增加，其膨潤度也會增加，可能是因為膜材中明膠含量增加後，PVA和明膠間的氫鍵增加，而提高膜材的吸水能力。

【0038】 (3)、機械性質測試

【0039】 機械性質的測試，是透過單軸拉伸機、測試受測材料在受到拉力時，材料在彈性範圍內及塑性範圍內，抵抗伸長變形及斷裂的能力。測試方式簡述如下：將上述製備的乾燥膜材浸泡於 37°C 的磷酸鹽緩衝溶液中，直到乾燥膜

材達到膨潤平衡狀態，接著將膜材裁剪成1 X 4 cm²，並以拉伸速率100 mm/min進行拉伸試驗，再記錄膜材之最大抗拉強度、最大伸長率、斷裂強度與斷裂伸長率。

【0040】 測試結果請見表二，其中PVA膜不的最大抗拉強度、斷裂強度以及斷裂伸長率，都顯著高於其它組別；PG50:50膜因為已經降解，故無法測量並以N.D表示；PG70:30膜的最大抗拉強度、斷裂強度以及斷裂伸長率，也都顯著高於PG60:40膜；根據上述結果，明膠含量增加時，會顯著降低PVA膜的機械性質。表二中標記「**」表示顯著高於PG60:40(P<0.05)，標記「*」表示顯著高於所有組別(P<0.05)。

【0041】 表二

	最大拉伸強度 (Mpa)	斷裂強度(Mpa)	斷裂伸長率(%)
PVA	1.3 ± 0.2 *	0.8 ± 0.1**	291.1 ± 21.1 *
PG50:50	N.D	N.D	N.D
PG60:40	0.09 ± 0.01	0.08	201.4 ± 18.5
PG70:30	0.7 ± 0.1 **	0.7 ± 0.1 **	266.3 ± 6.8

【0042】 (二)、聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料製備與性質測試

【0043】 將聚乙烯醇與竹炭奈米顆粒(BCNPs)加入10 mL去離子水中，並且以180 rpm之轉速攪拌均勻，以獲得一PVA/竹炭奈米顆粒溶液；將PVA/竹炭奈米顆粒溶液放置於恆溫水浴槽中，使其溫度維持於80°C；於PVA/竹炭奈米顆粒溶液中加入明膠粉末，以獲得一混合溶液；將混合溶液以80°C恆溫加熱1小時，再

置入超音波洗淨機震盪處理15分鐘以去除混合溶液中氣泡，最後將混合溶液於室溫、以180 rpm的轉速持續攪拌1分鐘，再將混合溶液倒入直徑10公分的鐵氟龍圓盤，再置入4°C冰箱作用60分鐘，再將其取出並放置於抽氣櫃中自然乾燥，以獲得一PVA/竹炭奈米顆粒/明膠複合材料；上述製備的PVA/竹炭奈米顆粒/明膠複合材料，其中的PVA與明膠重量比約為70:30，且添加得竹炭奈米顆粒重量比為0.5、1和3 wt%；PVA、明膠與奈米顆粒的確切添加重量以及製成的產物簡稱請參見表三，又因製成的複合材料呈現膜狀，將其簡稱為PGB膜。

【0044】 此實施例中使用的竹炭奈米顆粒是將竹炭經由氣流脈衝奈米粉碎技術(technology by the pulse gas flow)製備，其石墨化程度為17.7%。

【0045】 表三

簡稱	聚乙烯醇	明膠	竹炭奈米顆粒	去離子水
PGB0.5	1395 mg	595 mg	10 mg	10 mL
PGB1	1390 mg	590 mg	20 mg	10 mL
PGB3	1370 mg	570 mg	60 mg	10 mL

【0046】 (1)、降解率

【0047】 請參見第二圖(A)，為PGB膜的降解率分析結果，並以PG70:30膜作為對照組，圖中標記「*」表示相比其它組別具有最高降解度($P < 0.05$)，標記「#」表示相比其它組別呈現最低降解度($P < 0.05$)；第二圖(A)的結果顯示所有膜材於浸泡後24小時候，降解率都超過30%，PGB0.5膜的降解率又顯著高於其他組別，PGB3膜的降解率則是顯著低於其他組；於浸泡168小時之後，各組別的降解率和

其浸泡後24小時的降解率相比，都沒有顯著差異，且PGB3膜的降解率仍顯著低於PG70:30膜。

【0048】 (2)、膨潤度

【0049】 請參見第二圖(B)，為膨潤度分析結果，標記「*」表示相比其它組別呈現最高膨潤度($P < 0.05$)；各膜材於浸泡後0.5小時都達到膨潤平衡狀態，PGB0.5膜於浸泡3小時的膨潤度顯著的高於其他組。其可能原因為竹炭奈米顆粒帶有氫氧基的親水性基團，其與聚乙烯醇和明膠結合後，非結晶性且具有吸水特性的極性基團增多，而使膜材膨潤度增加，因此PGB0.5膜的膨潤度高於PG70:30膜；但是，若含竹炭奈米顆粒含量增加，因分子間的作用隨之增加，而在交聯結構的鍵上產生纏結點，使水膠膜結構更為緻密，導致交聯點間的鏈段活動受到限制，而使水分子不容易滲透到水膠網絡內達到平衡，致使膜材膨潤度下降，也會同時降低膜的降解率，因此PGB1膜以及PGB3膜的膨潤度會低於PGB0.5膜，降解率也低於PGB0.5膜。

【0050】 (3)、機械性質

【0051】 請參見表四，為機械性質檢測結果，各組別間，PGB1膜具有最大抗拉強度和斷裂強度，可能是添加竹炭奈米顆粒後提高PVA的結晶性，進而提升膜材的機械性質；但當竹炭奈米顆粒添加量超過1%時，PGB膜的機械性質反而下降，可能是竹炭奈米顆粒添加量過高而團聚，導致影響機械性質。表四中標記「*」表示顯著高於所有組別($P < 0.05$)。

【0052】 表四

	最大拉伸強度 (Mpa)	斷裂強度(Mpa)	斷裂伸長率(%)

PG70:30	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	266.3 ± 6.8
PGB0.5	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.0	239.6 ± 22.6
PGB1	$1.1 \pm 0.1^*$	$1.1 \pm 0.1^*$	290.29 ± 9.2
PGB3	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.1	199.9 ± 18.5

【0053】 (三)、聚乙烯醇/明膠/綠梔子素複合材料

【0054】 (1)、浸泡法聚乙烯醇/明膠/綠梔子素複合材料製備

【0055】 浸泡法是將聚乙烯醇/明膠(PG)膜裁剪成面積為 $1 \times 2 \text{ cm}^2$ 的片體，再將其分別浸泡10 mL、重量百分比為0.05、0.1、0.2%(W/V)的綠梔子素(Genipin)水溶液，於浸泡後的1小時、6小時、12小時以及24h之後，再計算PG膜片體的降解度和膨潤度，所製得的產物簡稱為Soaking-PG-GP膜，此實施例中使用的PG膜為PG70:30膜。

【0056】 (2)、混合法聚乙烯醇/明膠/綠梔子素複合材料製備

【0057】 混合法是將聚乙烯醇粉末加入8 mL去離子水中，以180 rpm的轉速攪拌均勻，以獲得一PVA溶液；將PVA溶液置入恆溫水浴槽，使其溫度維持於 80°C ；於PVA溶液加入明膠粉末，以獲得一PVA/明膠混合溶液；將PVA/明膠混合溶液於 80°C 恆溫加熱1小時，再將PVA/明膠混合溶液置入超音波洗淨機震盪處理15分鐘，以去除溶液中的氣泡；將PVA/明膠混合溶液於室溫下、以180 rpm轉速持續攪拌1分鐘，再加入2 mL綠梔子素溶液，以獲得PVA/明膠/綠梔子素混合溶液，所使用的綠梔子素溶液濃度分別為0.05、0.1、0.2 % (W/V)；將PVA/明膠/綠梔子素混合溶液以180 rpm轉速攪拌1分鐘，再倒入直徑為10公分的鐵氟龍圓盤，置入 4°C 冰箱60分鐘後，移入抽氣櫃中自然乾燥，以獲得PVA/明膠/綠梔子素複合材

料，製成的產物簡稱為Mixed-PG-GP膜，本實施例中PG膜的PVA與明膠重量比約為70:30，其製備時確切的PVA、明膠與綠梔子素添加量及其簡稱請參見表五。

【0058】 表五

簡稱	聚乙烯醇	明膠	綠梔子素	去離子水
Mixed-PG-0.05GP	1399 mg	600 mg	1 mg	10 mL
Mixed-PG-0.1GP	1399 mg	599 mg	2 mg	10 mL
Mixed-PG-0.2GP	1398 mg	598 mg	4 mg	10 mL

【0059】 (3)、降解率

【0060】 第三圖(A)為降解率測試結果，圖中標記「*」表示降解度顯著低於浸泡法(Soaking)各組別和PG70:30組($P < 0.05$)，標記「#」表示降解度顯著低於其他組別($P < 0.05$)；Soaking-PG-GP膜的降解率都顯著高於Mixed-PG-GP膜；Soaking-PG-GP膜，浸泡於綠梔子溶液後的12小時與24小時，浸泡於0.1%(W/V)綠梔子素溶液的組別(Soaking-PG-0.1GP)，其降解率顯著低於浸泡於磷酸鹽緩衝液的PG70:30膜，也低於浸泡於其他種綠梔子素溶液的組別(Soaking-PG-0.05GP與Soaking-PG-0.2GP)。

【0061】 混合法製備的GP-PG膜，當添加的綠梔子素含量增加，複合膜材降解率會顯著下降，因此Mixed-PG-GP膜的降解率都顯著低於PG70:30膜，而Mixed-PG-0.2GP膜的降解率又顯著低於Mixed-PG-0.05GP膜以及Mixed-PG-0.1GP膜，其可能原因是綠梔子素會與明膠分子結合，而有效降低材料的降解率。

【0062】 (4)、膨潤度

【0063】 第三圖(B)，為膨潤度分析結果，標記「*」表示膨潤度顯著低於浸泡法(Soaking)各組別和PG70:30組($P<0.05$)，標記「**」表示膨潤度顯著高於所有組別 ($P<0.05$)，標記「#」表示膨潤度顯著低於其他組別($P<0.05$)；以浸泡法製備的Soaking-PG-GP膜，膨潤度都高於PG70:30膜，可能的原因是浸泡液中的綠梔子素會與PG膜交聯，因此雖然膜材在液體中會降解，但是與浸泡液中綠梔子素交聯後會而防止膜材皺縮、而間接增加膜材的保水能力、因此具有較佳的膨潤度。

【0064】 以混合法製備的Mixed-PG-PG膜，其膨潤度都顯著低於Soaking-PG-GP膜，且Mixed-PG-0.2PG膜的膨潤度又顯著低於其他組；可能原因為以混合法製備的Mixed-PG-PG膜，其綠梔子素的交聯密度比浸泡法緻密，而降低其膨潤度。

【0065】 (5)、機械性質

【0066】 請參見表六，為Mixed-PG-GP膜的機械性質測試，其中Mixed-PG-0.05GP膜的最大抗拉強度和斷裂強度顯著高於其他組，因此後續以0.05% (w/v)綠梔子素的比例作為製備膜材的添加濃度；表六中標記「*」表示顯著高於所有組別($P<0.05$)，標記「**」表示顯著高於PG70:30組。

【0067】 表六

	最大拉伸強度 (Mpa)	斷裂強度(Mpa)	斷裂伸長率(%)
PG70:30	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	266.3 ± 6.8
Mixed-PG-0.05GP	$1.7 \pm 0.1^*$	$1.5 \pm 0.1^*$	276.8 ± 12.8
Mixed-PG-0.1GP	$1.1 \pm 0.2^{**}$	$1.1 \pm 0.1^{**}$	286.6 ± 50.8

Mixed-PG-0.2GP	0.9±0.2**	0.8±0.2**	294.9±33.1
----------------	-----------	-----------	------------

【0068】 (6)、交聯度

【0069】 利用紫外光測定複合材料的光吸收度，以確定綠梔子素與聚乙烯醇/明膠複合材料交聯的情形；測試方法為：取面積為1 X 4 cm²的膜材，浸泡37 °C的去離子水中，浸泡24小時之後，以無塵紙吸乾PG膜表面的水分，再將PG膜固定好以進行掃描。掃描的波長範圍為190-1100 nm，掃描速度為1200 nm/min，取點間隔為10 nm。

【0070】 第四圖(A)為使用混合法製備的Mixed-PG-GP膜、以及PG70:30膜的外觀觀察照片，可觀察到添加綠梔子素製備的材料，與無添加的組別相比，顏色會呈現藍色，且隨著綠梔子素的添加濃度增加、藍色顏色會更深，此顏色的改變可以初步判斷Mixed-PG-GP膜中，綠梔子素確實有與PVA/GP材料交聯。

【0071】 請再參見第四圖(B)，為可見光/紫外光光譜儀分析結果，結果顯示Mixed-PG-GP膜在波長240 nm處有吸收峰，此為綠梔子素的吸收峰，又Mixed-PG-0.1GP膜的吸收峰比Mixed-PG-0.2GP膜的吸收峰明顯，表示Mixed-PG-0.1GP膜中，綠梔子素的交聯作用較強。此外，當綠梔子素濃度提高到0.2%時(PG-0.2GP膜)，在波長280 nm處可觀察到吸收峰，其可能是雜環結構的氨基酸化合物所形成的吸收峰。

【0072】 (四)、綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料製備與性質測試

【0073】 將聚乙烯醇和竹炭奈米顆粒混合後，加入8 mL的去離子水中，攪拌15分鐘之後以獲得一PVA/竹炭奈米顆粒溶液；將PVA/竹炭奈米顆粒溶液於

80°C恆溫加熱30分鐘，再於PVA/竹炭奈米顆粒溶液中加入明膠粉末，以獲得一PVA/竹炭奈米顆粒/明膠溶液；將PVA/竹炭奈米顆粒/明膠溶液於80°C恆溫加熱一小時，再置入超音波洗淨機震盪處理15分鐘，以去除PVA/竹炭奈米顆粒/明膠溶液中的氣泡，並使其中的竹炭奈米顆粒分散均勻；最後將PVA/竹炭奈米顆粒/明膠溶液於室溫下、以180 rpm的轉速持續攪拌，並於PVA/竹炭奈米顆粒/明膠溶液中加入2 mL綠梔子素溶液，再繼續以180 rpm的轉速率攪拌1分鐘，以獲得PVA/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素溶液；最後將PVA/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素溶液倒入直徑10公分的鐵氟龍圓盤，並置入4°C冰箱作用60分鐘，再將其移入抽氣櫃中自然乾燥；製得的產物稱為PGB1-0.05GP，且使用的材料種類與重量請見表七。

【0074】 表七

簡稱	聚乙烯醇	明膠	竹炭奈米顆粒	綠梔子素	總體積
PGB1-0.05GP	1389 mg	590 mg	20 mg	1 mg	10 mL

【0075】 (1)、降解率

【0076】 第五圖(A)為PG70:30膜、Mixed-PG-0.05GP膜、PGB1膜以及PGB1-0.05GP膜的降解度測試圖，圖中標記「*」表示降解度顯著低於PG70:30組($P<0.05$)，標記「**」表示降解度顯著低於PG70:30組和PGB1組($P<0.05$)，標記「#」表示降解度顯著低於所有組別($P<0.05$)；PG70:30膜於浸泡後24小時的降解率約40%，而添加竹炭奈米顆粒的PGB1膜降解率約為35%，添加綠梔子素的Mixed-PG-0.05GP膜以及PGB1-0.05GP膜的降解率則顯著下降到約10%；於浸泡後

168小時，添加竹炭奈米顆粒的PGB1膜降解率顯著低於PG70:30膜，又添加綠梔子素的Mixed-PG-0.05GP膜以及PGB1-0.05GP膜，其降解率也都顯著低於PG70:30膜，表示竹炭奈米顆粒與綠梔子素的添加能有效提升PG膜的耐久性。

【0077】 (2)、膨潤度

【0078】 請參見第五圖(B)，為膨潤度分析結果，圖中標記「*」表示膨潤度顯著高於Mixed-PG-0.05GP組和PGB1-0.05GP組($P<0.05$)；所測試的膜材膨潤度都超過300%，並且在浸泡0.5小時之後就達到膨潤平衡，表示所測試的材料都具有良好的保水率；同時搭配第五圖(A)的降解率測試結果，顯示所有膜材並沒有因為良好吸水性而有大量降解的趨勢，即這些材料在吸水性良好情況下還能夠維持膜材結構，有利於細胞貼附在膜材上面。

【0079】 (3)、機械性質

【0080】 請參見表八，為複合材料的機械性質分析結果；其中Mixed-PG-0.05GP膜與PGB1-0.05GP膜的斷裂強度、抗拉強度和斷裂伸長率相似，且皆高於其他組別，表示添加綠梔子素對膜材機械性質的影響較添加竹炭奈米顆粒的影響大；表八中標記「*」表示機械強度顯著高於PG70:30組($P<0.05$)，標記「**」表示機械強度顯著高於PG70:30組和PGB1組($P<0.05$)。

【0081】 表八

	最大拉伸強度 (Mpa)	斷裂強度(Mpa)	斷裂伸長率(%)
PG70:30	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1	266.3 ± 6.8
PGB1	1.1±0.1*	1.1±0.1*	290.3±9.2
Mixed-PG-0.05GP	1.7±0.1**	1.5±0.0**	276.8±12.8

PGB1-0.05GP	1.7±0.4**	1.6±0.4	266.3±6.8
-------------	-----------	---------	-----------

【0082】 (4)、生物相容性測試

【0083】 本試驗使用人類胚胎肺纖維母細胞，WI-38細胞株測試膜材的生物相容性，WI-38細胞株係購自美國菌種保存中心ATCC (American Type Cell Collection)，其ATCC編號為CCL-75；測試方法簡述如下：先將膜材浸泡於高壓滅菌的0.3%幾丁聚醣醋酸溶液中，浸泡溫度為25°C、浸泡時間10分鐘；使用無菌水清洗膜材，至少清洗三次；將膜材放置於細胞培養盤中，再將WI-38細胞株以 5×10^4 cells/mL的密度培養於放置有膜材的細胞培養盤中，並將培養盤放置於溫度37°C、供給5%二氧化碳的細胞培養箱培養；培養一段時間後，將細胞培養盤取出，移除細胞培養基，並以磷酸鹽緩衝溶液清洗細胞，再於培養盤中加入含有溴化噻唑藍四氫唑(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, MTT)培養基，再將細胞於37°C細胞培養箱避光培養1-3小時；移除含有MTT的細胞培養基，並以磷酸鹽緩衝溶液清洗細胞至少，移除磷酸鹽緩衝溶液，並於培養盤中加入二甲基亞砷(DMSO)，使細胞培養盤於避光的狀態下輕微搖晃5分鐘，再取培養盤中的二甲基亞砷溶液，測量其於波長570 nm的吸光值(簡稱O.D.570)，並計算細胞存活率。

【0084】 細胞存活率(%)= $(O.D.570_{\text{實驗組}} - O.D.570_{\text{DMSO}}) / (O.D.570_{\text{對照組}} - O.D.570_{\text{DMSO}}) \times 100\%$

【0085】 請參見第六圖(A)，為PG70:30膜以及添加竹炭奈米顆粒的PGB膜細胞相容性測試，又圖中的TCP是無放置膜材的對照組，並將其的細胞存活率視為100%，PVA則是純聚乙烯醇膜的對照組，圖中標記「*」表示細胞存活率顯著高於TCP組($P < 0.05$)，標記「**」表示細胞存活率顯著高於TCP組和PVA組($P < 0.05$)，

標記「#」表示細胞存活率顯著高於TCP組、PVA組和PG70:30組($P<0.05$)，標記「##」表示細胞存活率顯著低於TCP組($P<0.05$)；第六圖(A)顯示添加竹炭奈米顆粒的PGB膜，於共同培養後24小時與48小時，細胞存活率都有超過100%，而在共同培養後72小時，細胞存活率依然有65%，表示PGB膜具有良好的生物相容性。然而，含有竹炭奈米顆粒的PGB膜材在共同培養72小時之後，候細胞存活率明顯下降的趨勢，且都顯著低於無添加竹炭奈米顆粒的PG70:30膜。又，添加3%竹炭奈米顆粒的PGB3膜，在培養後24小時的細胞存活率顯著低於PGB0.5膜以及PGB1膜，表示竹炭奈米顆粒的添加量並非越高越好，而是有適當的添加範圍；又膜材的膨潤度也會影響細胞存活率，雖然高膨潤度的膜材可以細胞交換營養物和代謝廢棄物的效率，但同時也會抑制細胞在膜材表面的貼附，進而降低細胞存活率。

【0086】第六圖(B)為添加綠梔子素所製備的Mixed-PG-BP膜材的生物相容性測試結果，圖中的TCP是無放置膜材的對照組，並將其的細胞存活率視為100%，PVA則是純聚乙烯醇膜的對照組，圖中標記「*」表示細胞存活率顯著高於TCP組($P<0.05$)，標記「**」表示細胞存活率顯著高於TCP組和PVA組($P<0.05$)，標記「#」表示細胞存活率顯著高於TCP組、PVA組和PG70:30組($P<0.05$)；於培養24小時和48小時之後，綠梔子素交聯的PG-GP膜組的細胞存活率都顯著高於TCP組、PVA組與PG70:30組；而培養72小時之後，TCP對照組、PVA對照組以及其他組別之間的細胞存活率並沒有顯著差異；又，添加綠梔子素所製成的膜材，在觀察的各時間點內，其細胞存活率都高於75%，甚至在培養後24小時與48小時，其細胞從活率可以高達150%、高於對照組，顯示本發明製得添加綠梔子素的材料具有良好的生物相容性。

【0087】請再參見第七圖，為添加竹炭顆粒或是綠梔子素之各膜材的生物相容性測試結果，其中TCP是無放置膜材的對照組，並將其的細胞存活率視為100%，PVA則是純聚乙烯醇膜的對照組，且圖中標記「*」表示細胞存活率顯著

高於TCP組($P<0.05$)，標記「**」表示細胞存活率顯著高於TCP組和PVA組($P<0.05$)，標記「#」表示細胞存活率顯著高於所有膜材($P<0.05$)；結果顯示與各膜材共培養的細胞，於共培養24小時之後的細胞存活率都超過90%，表示以聚乙烯醇/明膠複合材料為基礎所製備的膜材都具有良好的生物相容性；添加竹炭顆粒的PGB1組以及PGB1-0.05GP組，其細胞存活率低於PG70:30組，可能是因為細胞會藉由內嗜作用將膜材內團聚的竹炭顆粒吞入、而造成細胞損傷所導致，但是PGB1-0.05%GP組的細胞存活率，與TCP組相比事實上並無顯著差異，即代表PGB1-0.05%GP膜的細胞相容性也相當優秀。

【0088】 由上述之實施說明可知，本發明具有以下優點：

【0089】 1. 本發明之綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，添加的竹炭奈米顆粒能有效提稱複合材料的機械性質以及降低降解率，提高複合材料的耐使用性。

【0090】 2. 本發明之綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，添加的綠梔子素會與聚乙烯醇與明膠產生交聯，也提高了複合材料的抗降解能力以及機械性質，且亦提高複合材料的生物相容性。

【0091】 3. 本發明之綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，浸泡於磷酸緩衝液30分鐘內就能達到膨潤平衡，且含水量都超過96%，加上本發明之複合材料具有良好的生物相容性與低細胞毒性，因此具有應用於會滲出大料組織液的傷口護理的潛力，以作為敷料使用。

【0092】 綜上所述，本發明之綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料及其製備方法，的確能藉由上述所揭露之實施例，達到所預期之使用功效，且本發明亦未曾公開於申請前，誠已完全符合專利法之規定與要求。爰依法提出發明專利之申請，懇請惠予審查，並賜准專利，則實感德便。

【0093】 惟，上述所揭之圖示及說明，僅為本發明之較佳實施例，非為限定本發明之保護範圍；大凡熟悉該項技藝之人士，其所依本發明之特徵範疇，所作之其它等效變化或修飾，皆應視為不脫離本發明之設計範疇。

【符號說明】

【0094】 無

【生物材料寄存】

【0095】 無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料的製備方法，係包含以下步驟：

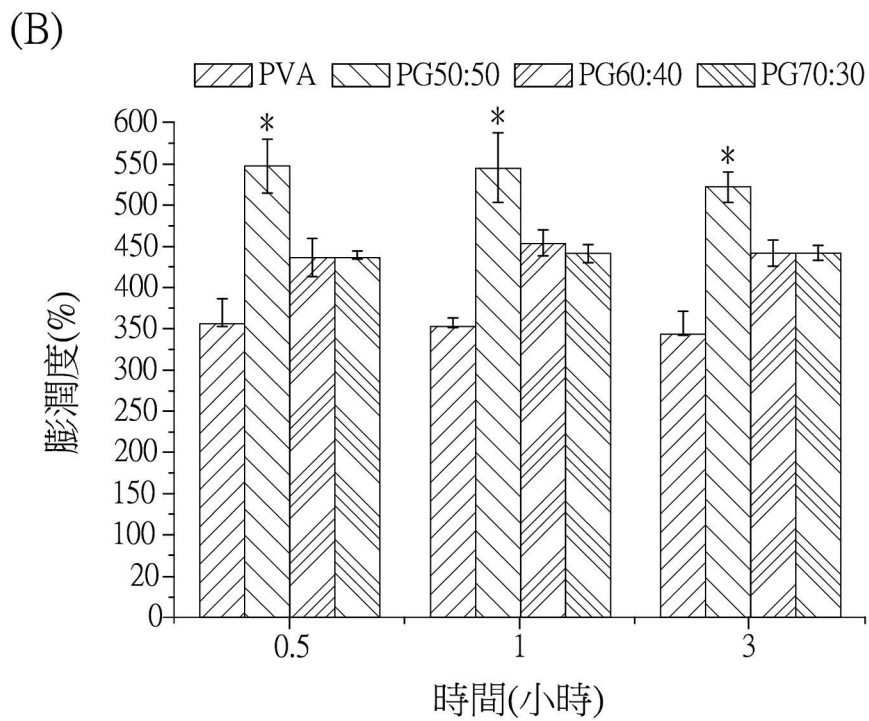
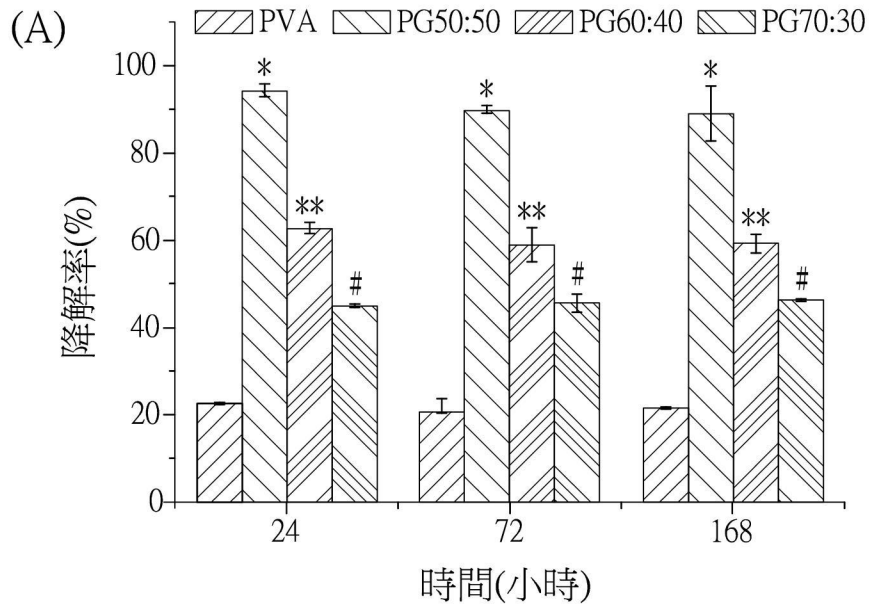
步驟一：製備一聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒水溶液，並於該聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒水溶液中加入明膠且混合均勻，以獲得一聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液；

步驟二：於該聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠混合溶液中添加綠梔子素，混合均勻，以獲得一聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液；以及

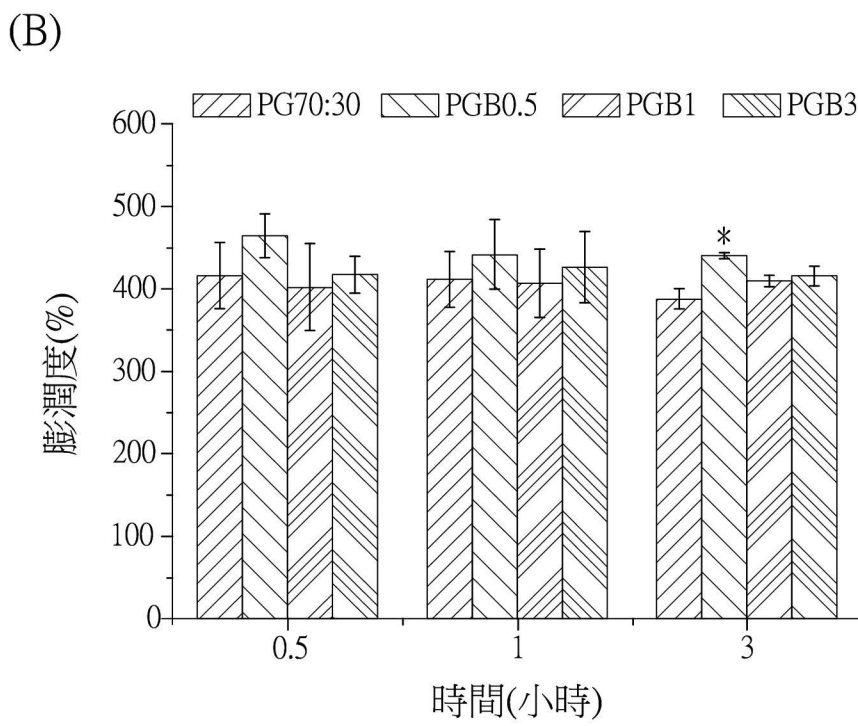
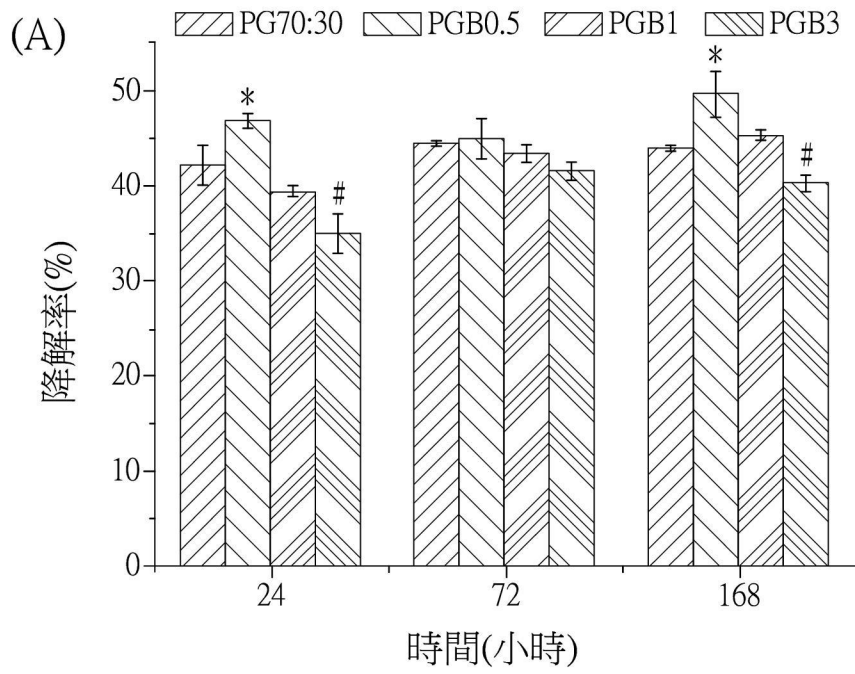
步驟三：將該聚乙烯醇/竹炭奈米顆粒/明膠/綠梔子素混合溶液倒入一模具中，並於0-10°C，以獲得該綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，其中該綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料中的聚乙烯醇與明膠重量比為7:3，包含1 wt%竹炭奈米顆粒，以及0.05 wt%之綠梔子素。

【請求項2】 一種綠梔子素交聯聚乙烯醇/明膠/竹炭奈米顆粒複合材料，其係包含聚乙烯醇、明膠、竹炭奈米顆粒與綠梔子素，其中該聚乙烯醇與明膠重量比為7:3，包含1 wt%竹炭奈米顆粒，以及0.05 wt%之綠梔子素。

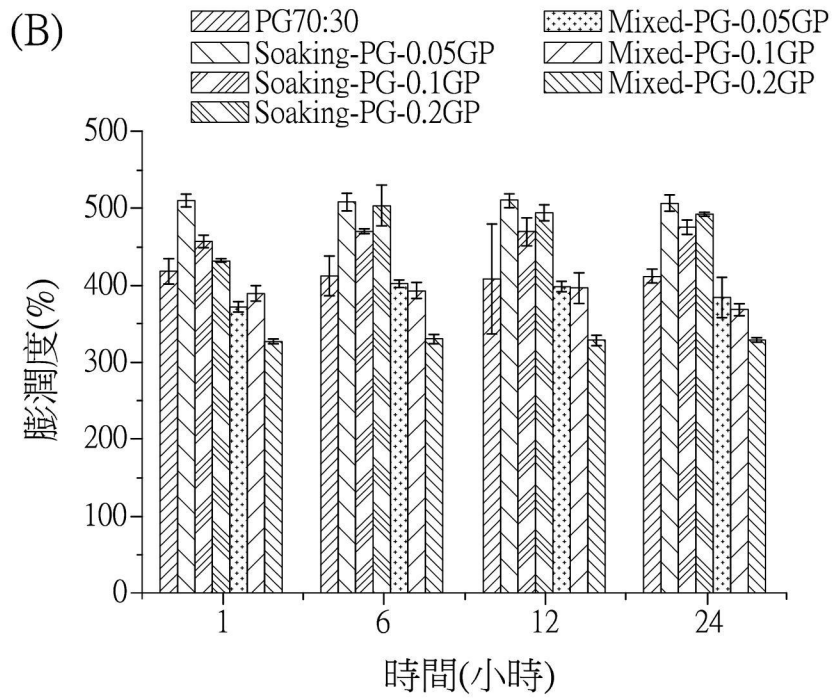
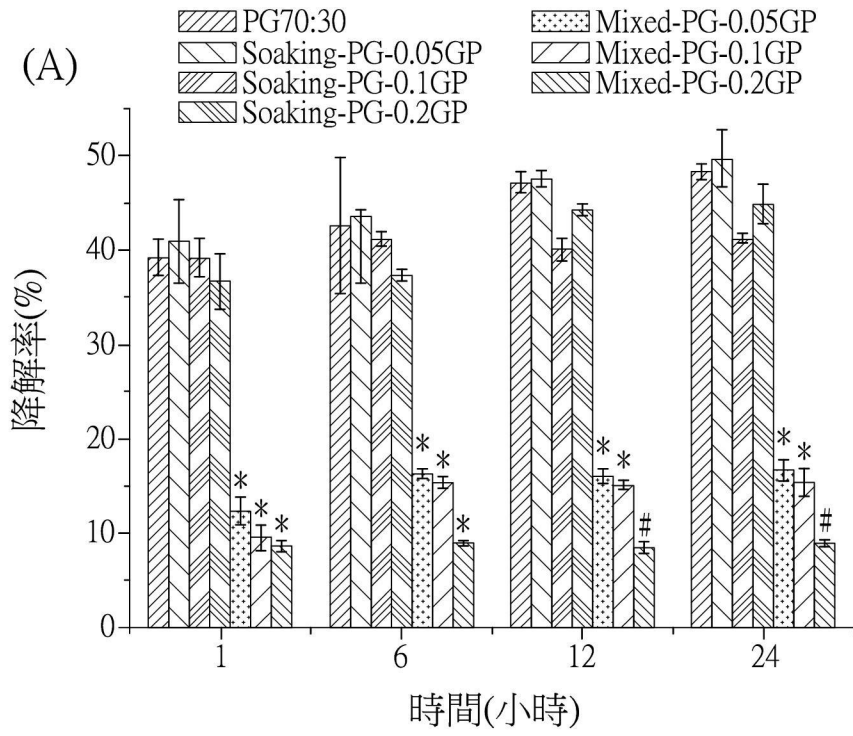
【發明圖式】



第一圖

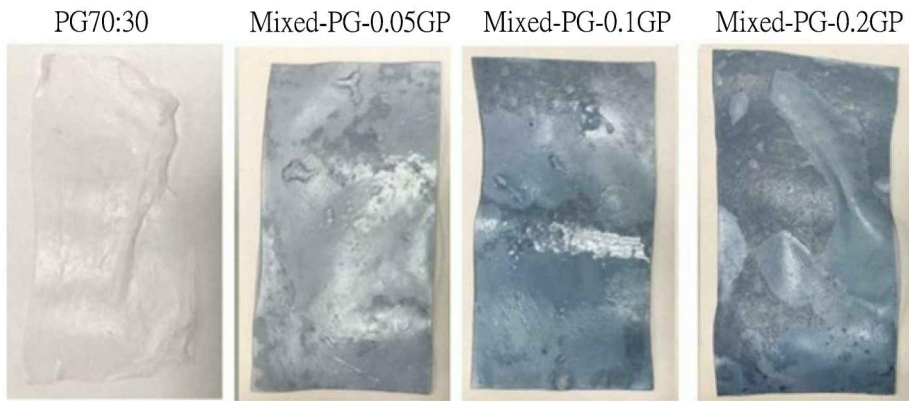


第二圖

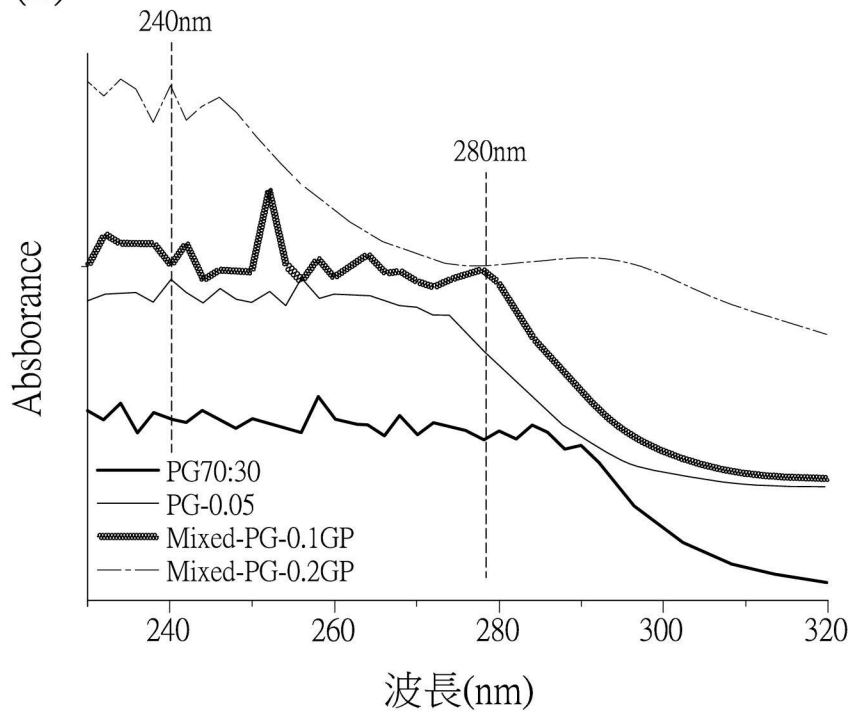


第三圖

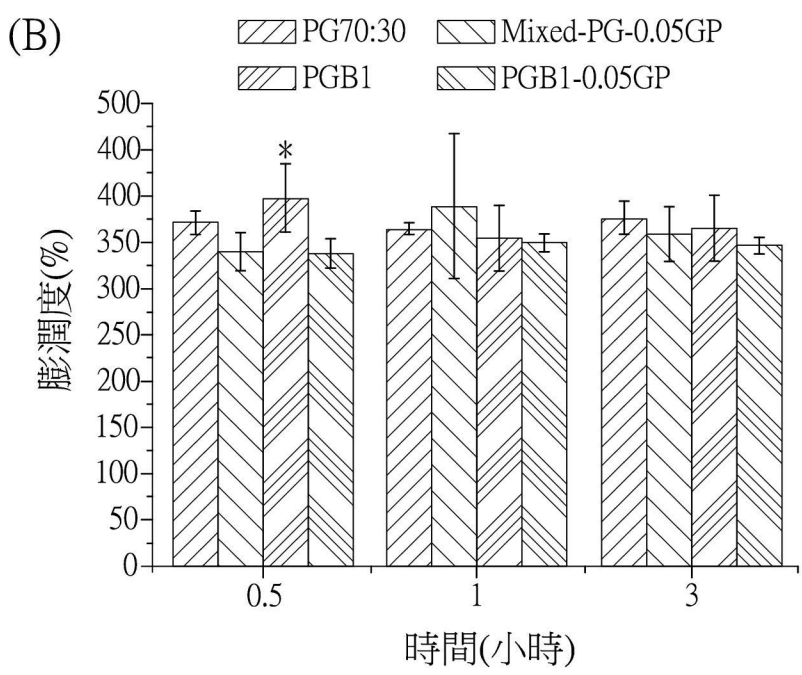
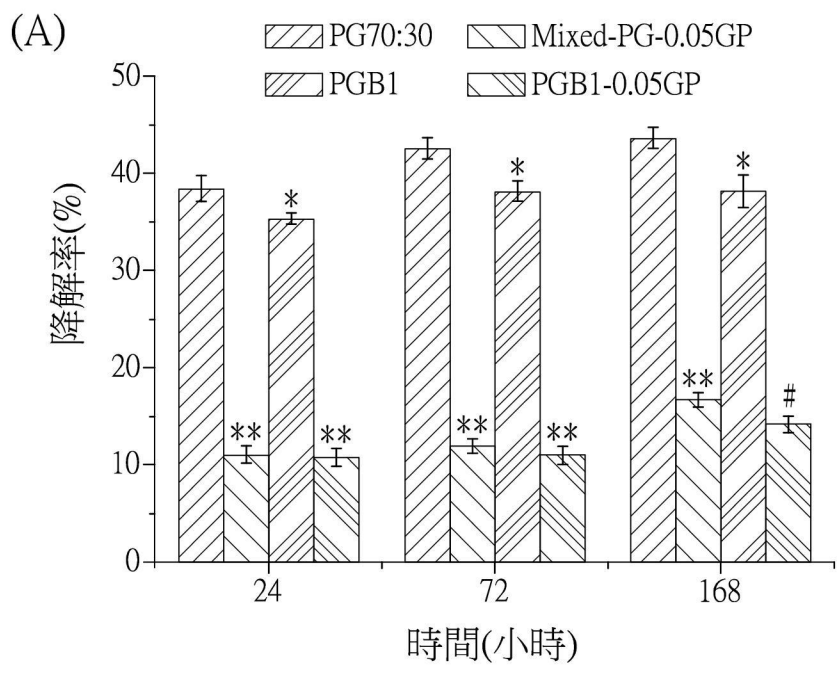
(A)



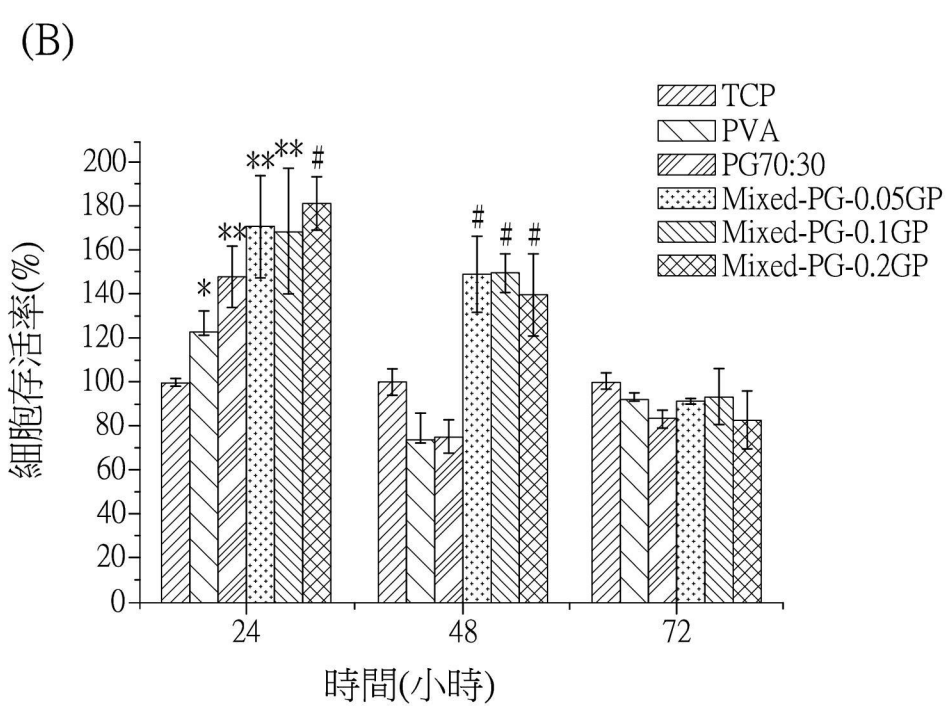
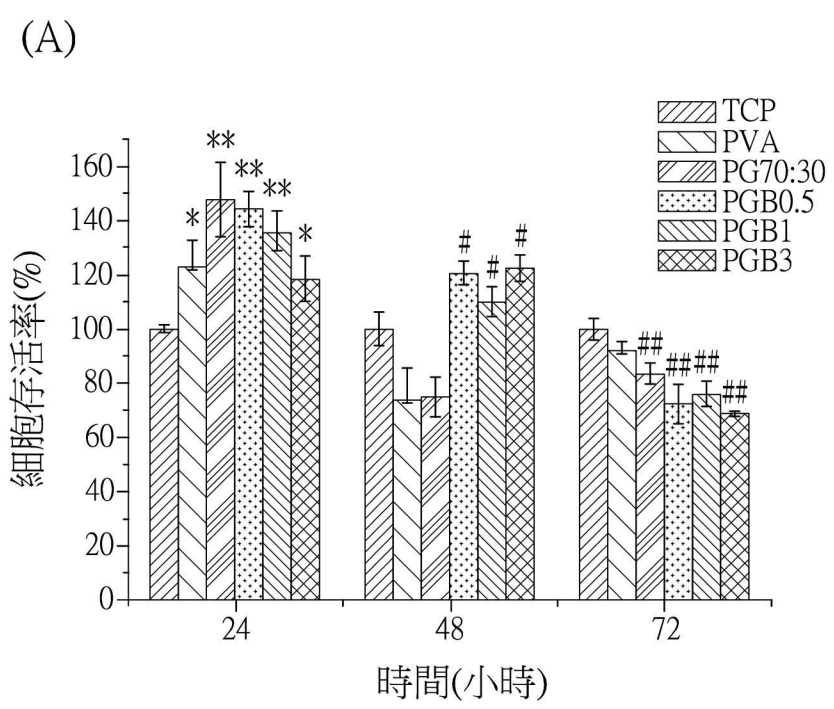
(B)



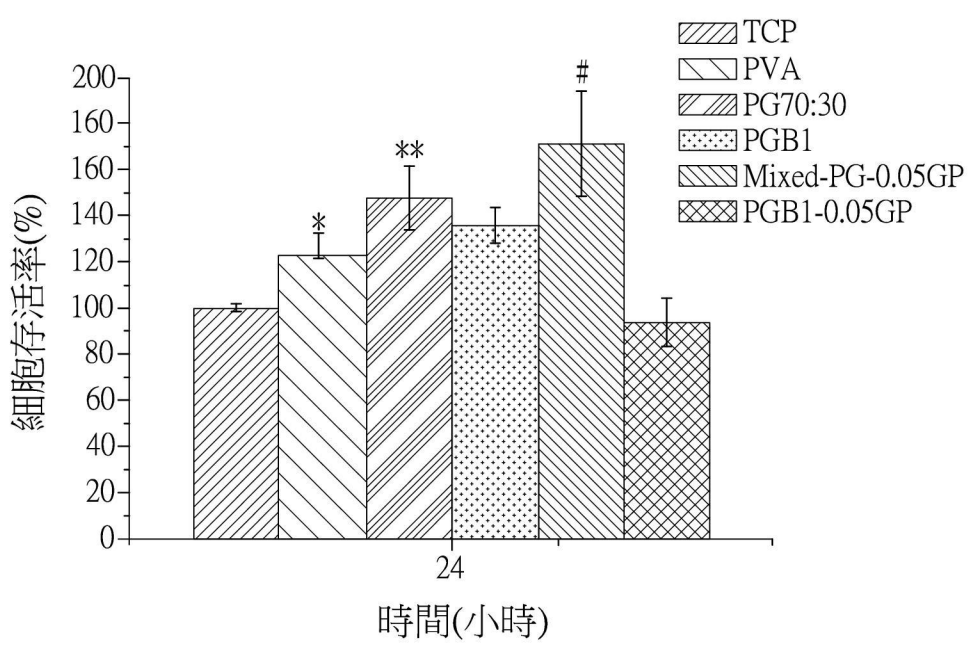
第四圖



第五圖



第六圖



第七圖