

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

新型 Fe3O<sub>4</sub>/living block copolymer 之合成及其自組裝微  
胞型態與藥物釋放之研究

研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型

計畫編號：NSC 99-2221-E-041-004-

執行期間：99 年 08 月 01 日至 100 年 07 月 31 日

執行單位：嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

計畫主持人：李佳芬

計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：王于誠

碩士班研究生-兼任助理人員：郭凱翔

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2 年後可公開查詢

中華民國 100 年 09 月 12 日

# 行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

## 新型 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/living block copolymer 之合成及自組裝微胞型態與 藥物釋放之研究 (I)

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 99 - 2221-E -041 -004 -

執行期間：99 年 8 月 1 日至 100 年 7 月 31 日

執行機構及系所：嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

計畫主持人：李佳芬

共同主持人：

計畫參與人員：王于誠，郭凱翔

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

本計畫除繳交成果報告外，另須繳交以下出國心得報告：

- 赴國外出差或研習心得報告
- 赴大陸地區出差或研習心得報告
- 出席國際學術會議心得報告
- 國際合作研究計畫國外研究報告

處理方式：除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

中 華 民 國 100 年 7 月 31 日

# 國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

## 1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

### ■ 达成目標

- 未達成目標（請說明，以 100 字為限）  
 實驗失敗  
 因故實驗中斷  
 其他原因

說明：

## 2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表  未發表之文稿  撰寫中  無

專利： 已獲得  申請中  無

技轉： 已技轉  洽談中  無

其他：(以 100 字為限)

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以500字為限）

本研究計畫主要是以 controlled/living radical polymerization (C/LRP) 方式合成出具有溫度感應性以及具有 pH 感應性的 living block copolymer，此 living block copolymer 會受到溫度以及 pH 值的影響而改變其親水性與疏水性，藉由此特性，living block copolymer 即可在水中進行 self-assembly 形成微胞，並且在 living block copolymer 存在之下合成  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ，以製備出表面接有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  而且具有溫度感應性及 pH 感應特性的有機/無機  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{block copolymer}$  磁性複合微胞。並以此  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{block copolymer}$  磁性複合微胞作為載體，將藥物包覆於其內部，由於此微胞接有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ，而  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  是一種磁性材料，因此在磁場的作用引導下， $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{block copolymer}$  磁性複合微胞載體會隨著磁場的引導而到達病變組織，此外根據研究顯示  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性奈米粒子於交流磁場下具有良好的發熱特性，因此我們可以利用此發熱特性使得 block copolymer 中具溫度感應性的 polymer chains 產生收縮，而將內部所包覆的藥物擠出來，針對病變組織做直接的治療，如此達到標的治療的功效。此外由於  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的磁性奈米粒子於交流磁場下具有良好的發熱特性，因而也具有臨床的腫瘤熱炙治療效果，直接藉由  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  所發出的熱源來破壞腫瘤組織細胞，而達到治療腫瘤組織的目的。

本計畫研究開發出 ” $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{block copolymer}$  磁性複合微胞載體” 其具有三種功能：1.可經由外在磁場的引導而標定在特定的組織上 2.由於此載體是微胞型態，因此不受微胞空間的限制而可包覆大量的藥物，提升載體的藥物包覆效率 3.此微胞載體具有高藥物包覆效率，只須少量的載體即可達到所需的藥物劑量，如此可使磁場更有效的引導磁性微胞載體到達細胞病變的組織上。本研究對於醫藥領域具有貢獻，能夠使得藥物具有更理想的功能性，除了能夠減少治療過程中副作用的產生，更能夠使得藥物直接針對病灶作治療，增進了治療的效果。

# 新型 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/living block copolymer 之合成及自組裝微胞型態與藥物釋放之研究 (I)

計劃編號：NSC 99 — 2221-E — 041 — 004 —

執行期限：99 年 8 月 1 日至 100 年 7 月 31 日

計劃主持人：李佳芬 嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

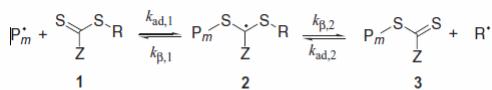
計劃參與人員：王于誠 國立台灣大學材料科學暨工程研究所

郭凱翔 國立台灣大學化學工程研究所

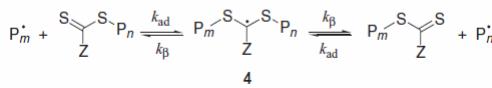
## 摘要

近年來，Block copolymer因為能夠將兩者以上不同高分子之性質整合，且在不同的溶劑中，根據其組成之高分子與溶劑親合性不同，所形成特殊的自組裝現象與型態，而廣泛的受到許多的探討與研究。在合成 block copolymer 的方法中，活性自由基聚合法(living radical polymerization)能夠藉由延長自由基的活性，使用分段進藥的方式使不同片段組成成功鍵結在一起，並且調控其不同鏈段的組成多寡，合成出所需之block polymer。在活性自由基具合法中，可逆型加成-分裂鏈轉移(RAFT)聚合法是最近發展出來，可用於合成特定結構高分子的一種活性自由基聚合法；此法利用自由基聚合中的鏈段轉移效應，使用特定的鏈段轉移劑以控制自由基的活性，基本的反應機制如下：

Pre-equilibrium:



Main equilibrium:



本研究為利用此聚合法合成具有溫度感應性的聚(氮-異丙基丙烯醯)(poly(*N*-isopropylacrylamide)，poly(NIPAAM))，並在此高分子的鏈段上合成聚丙烯酸(poly(acrylic acid)，PAA)，以製備具有溫度感應性與酸鹼感應性之PNIPAAm-PAA嵌段共聚物(block copolymer)。

關鍵字：活性自由基聚合法、可逆型加成-分裂鏈轉移聚合法、氮-異丙基丙烯醯、丙烯酸、溫度感應性、自組裝。

## 2、實驗

### 2.1 藥品

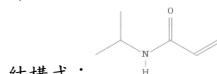
#### a. 氮-異丙基丙烯醯胺

(*N*-isopropylacrylamide, NIPAAM)

分子量：113.16

熔點：61.5°C

沸點：90.5°C



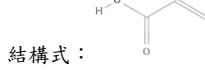
結構式：

#### b. 丙烯酸 (acrylic acid, AA)

分子量：72.06

熔點：13°C

沸點：139°C



結構式：

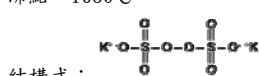
#### c. 過硫酸鉀

(Potassium Persulfate, KPS)

分子量：270.322

熔點：1067°C

沸點：1689°C

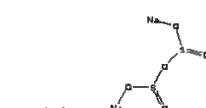


結構式：

#### d. 焦亞硫酸鈉

(sodium metabisulfite, SMBS)

分子量：190.11

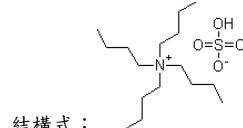


結構式：

#### e. 四丁基硫酸氫鎓

(tetrabutylammonium hydrogen sulfate, TBAH)

分子量：339.5



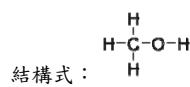
結構式：

#### f. 甲醇 (methanol)

分子量：32.04

熔點：-98°C

沸點：64.7°C



結構式：

#### g. 二硫化碳

(carbon disulfide)

分子量：76.14

結構式： S=C=S

#### h. 氢氧化鈉

(sodium hydroxide)

分子量：40

#### i. 四氢呋喃

(tetrahydrofuran, THF)

分子量：72.11



結構式：

#### j. 礦物油

(mineral spirit)

## 2.2 第一階段：鏈轉移劑之合成

- 1) 根據表一之配方將 TBAH,丙酮,氯仿,二硫化碳與礦物油混合併持續攪拌均勻並置入室溫水浴中。
- (2) 將 NaOH 水溶液緩慢滴入溶液中，溶液之溫度不可超過 25°C 並持續攪拌隔夜
- (3) 將去離子水、濃鹽酸加入固化之反應物使反應物溶於水中後再酸化析出。
- (4) 將反應完成之溶液利用抽氣過濾將多餘溶劑除去，所得固體置於 50°C 烘箱中烘乾，將烘乾產物進行再結晶純化。

### 2.3 第二階段：使用 RAFT 法合成 poly(NIPAAm)

- (1) 根據表二之配方將 NIPAAm 單體,CMP,KPS,SMBS 溶於去離子水中並置入三頸瓶中，於 25°C 下通氮氣持續攪拌進行反應。
- (2) 將反應所得之溶液凍乾成粉末狀，將粉末狀的反應產物以 THF 溶解後滴入正己烷中使產物析出以除去未反應單體及寡聚物。
- (3) 將析出之高分子置入 40°C 真空烘箱 24hrs 除去多餘單體。

### 2.4 第三階段：使用 RAFT 法合成 triblock poly(NIPAAm)-block-poly(AA)

- (1) 將純化後的 PNIPAAm 做為 macroCTA，根據表三之配方與單體 AA、氧化劑 KPS、還原劑 SMBS 混合溶於甲醇中於室溫 25°C 並持續攪拌通氮氣進行反應。
- (2) 反應完成之溶液置入孔徑為 MWCO=3500 之透析袋中於去離子水中透析兩天，以除去多餘單體及寡聚物。
- (3) 將透析後之反應溶液加入 HCl 酸化使高分子析出，將此溶液離心去上層液，將下層之沉澱凍乾成粉。

### 2.6 觀察 triblock poly(NIPAAm)-block-poly(AA) 自組裝性質與型態測試

利用穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope) 觀察自組裝型態

將高分子溶液溫度調整至 LCST 以上之後，將溶液滴於銅網上，再置入溫度在 LCST 以上之烘箱烘乾，使顆粒可以保持在微胞狀態下留存於銅網之上，以方便 TEM 下的觀察。

### 2.7 體積相轉移溫度 (VolumePhase Transition Temperature, TVPT)、最低臨界溫度 (Lower Critical Solution Temperature,LCST) 之測定

利用-UV-visible 光譜儀觀察最低臨界溫度，藉由觀察樣品對 460nm UV 光線之吸收值隨溫度的變化以測定其 LCST 現象的存在。

實驗過程中，觀察吸收值隨溫度增加的曲線，當升溫到某溫度時發現吸收度快速上升的話，便能夠判定該溫度為此樣品之 LCST；倘若其改變範圍較大的情形，便將 LCST 定義為樣品能對溫度發生感應之範圍溫度。

### 2.8 分子量檢定

利用膠體滲透層析儀 (Gel Permeation Chromatography, GPC) 測試

將欲待測之高分子粉末溶於 THF 中配製成 2mg/1ml 之溶液，注入流速為 1ml/min，溶劑為 40°C THF，以 styrene 作為標準品的 GPC 儀器中進行分子量的檢定，再以儀器所附程式計算出 Mn, Mw 與 polydispersity(PDI)。

### 2.9 分子結構檢定

利用核磁共振光譜儀 (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) 測試

將欲待測之高分子粉末取量約 3~4mg 取量置於 NMR 管之底部，接著根據待測物質之特性，於 NMR 管注入重水-d<sub>2</sub> 氣氛或者是 d-甲醇 1 毫升，再利用超音波震盪使樣品溶解於溶劑之中，送測 400MHz 之 NMR 儀器測定，利用所得曲線峰值下面積之比例推算樣品不同官能基之比例。

## 3、結果與討論

### 3.1 鏈轉移劑之合成

#### 3.1.1 分子結構檢定

圖 1 為鏈轉移劑溶於 d-氯仿後於儀器下偵測 C13 頻譜所得到之圖形，根據此鏈段轉移劑之結構所得得到之頻譜理論峰值會出現在 25.76ppm, 57.25ppm, 176.26ppm, 220.50ppm 的位置 85；對照本實驗中合成樣品所得到之頻譜，根據其四個峰值之位置，可以推論實驗如預期的合成出目標的鏈轉移劑；且其餘部分之背景

值除 d-氯仿本身產生之 77ppm 左右之峰值外無出現任何其他峰值，表示經過實驗步驟之純化後，所得鏈轉移劑中所含之其他物質相當稀少。

### 3.2 PolyNIPAAm 之合成

#### 3.2.1 分子量測定

本實驗中將前一步驟所合成之鏈段轉移劑用於氧化還原起始系統進行 RAFT 活性聚合法以控制合成所得高分子之分子量以及分子量分佈。在反應進行時，具反應性之高分子自由基會與鏈段轉移劑產生反應，在鏈段轉移劑之中不停的循環反應使自由基的生存時間延長，最終可以達到較好的分子量與分子量分佈的控制，本實驗利用 GPC 對製備得到的 polyNIPAAm 進行分子量的檢定，在不同的配方下得到的結果如圖 2，計算得到之分子量與 PDI 值則整理於表 4。

在實驗中的三種比例之下，鏈段反應劑的效應能夠有效的控制高分子之分佈以及分子量，PDI 值均低於 1.3，且反應率約高於 90%，表示此系統中反應之鏈段能夠持續進行反應使系統中之單體幾乎被消耗殆盡。系統中的鏈段轉移劑所佔的比例越高的情形，活性聚合的控制情形也更加明顯；在單體對鏈段轉移劑的比例為 100:1 的組別中，PDI 值甚至可以小於 1.1，顯示此時每一鏈段的分子量均相當接近。從圖 3 之中可以知道，含有此鏈段轉移劑的合成系統中所得到的 polyNIPAAm 末端均被改質為-COOH 之羧基，此現象對於分子的性質影響在後續的研究中將會進一步被討論。

#### 3.2.2 產物活性檢定

活性聚合法之活性檢定方面，本實驗選取 N200 的組別，使用此組別合成得到之高分子，在 N100 之配方中，將合成之產物做為高分子型鏈段轉移劑取代原先之小分子鏈段轉移劑再進行一次合成，以驗證此系統中合成之分子鏈段是否能夠具有繼續進行反應增加分子量的活性。

圖 4 中比較了巨鏈段起始劑(marco-CTA)與合成所得之高分子經由 GPC 測試後所得到之分子量分佈曲線，並將計算所得之數量平均分子量與 PDI 標註於曲線旁以便對照。實驗結果得知此實驗方法合成所得之 PNIPAAm 具有足夠之活性能夠在下一步的合成反應中進行鏈段延長反應，在 N100 組別的配方下能將分子量增加約 1 萬；然而 PDI 值則從 1.18 略為增加為 1.28，顯示此時高分子鏈段的空間障礙使鏈轉移劑對分子量的控制能力降低。

#### 3.2.3 LCST 現象檢定

本實驗合成之 PNIPAAm 由於其鏈段轉移劑造成之影響，高分子之兩末端均被改質為羧基，利用此產物進行 LCST 之檢定，選用不同分子量之組別以及在不同酸鹼值下進行之結果如圖 5。

觀察不同酸鹼值對於 LCST 之影響，發現當環境較酸的情形下，分子末端之羧基未解離，對於高分子之親疏水性質沒有明顯影響；當環境逐漸往鹼性環境移動時，羧基逐漸發生解離使分子末端具有親水性質發生，造成 PNIPAAm 需要在更高的溫度才能發生疏水之現象，LCST 往高溫移動。

由於羧基之改質僅在高分子之末端發生，在分子量較大的組別中，末端羧基對於高分子鏈段性質的影響相對較不明顯，因此即使在不同酸鹼值中，高分子之 LCST 值也不因羧基解離而產生明顯之改變；然而在分子量較短的組別之中，在環境較鹼的組別之中，分子之疏水性質受末端羧基明顯影響，因此在 LCST 值之後所形成之吸收值也較酸性組別為小，顯示此時顆粒之中因疏水性質引起之聚集情形較不明顯。

#### 3.2.4 高分子自組裝現象觀察

當高分子溶液所在環境之溫度提高超過 LCST 時，此時 PNIPAAm 之性質轉化為疏水之型態，此疏水鏈段與末端羧基對溶劑之不同親和性質使高分子在高溫溶液下會

發生自組裝的現象，並比較酸鹼值與高分子分子量造成之影響。

在分子量約為 104g/mole 的組別之中，此時末端羧基對高分子造成之影響較為顯著，當環境為鹼性時，解離羧基之親水性質使 PNIPAAm 的疏水性質減弱，親疏水性不明顯的情形下，高分子雖能夠形成球狀之型態，但型態之間無法穩定分散在溶液之中而發生劇烈聚集的情形，如圖 6(c)所示；而在較為酸性的環境中，羧基之親水性質因為質子化之原因更為減弱，此時高分子為單純之聚集堆疊，不發生形成特定型態，如圖 6(a)。

比較圖 6 中的圖形可以得知，在較鹼的環境下，解離之羧基產生之親水性與高溫下 PNIPAAm 的疏水性質之間的差異能夠促使高分子發生自組裝的現象；如前述 3.2.3 所討論，在高分子之分子量較大的情況下，末端解離羧基對於整體之疏水性質影響較小，因此末端與鏈段之間的親疏水性質差異更為明顯，在圖 7(a)中可以發現，當分子量較小的情形時，自組裝產生之球狀型態無法穩定分散在系統中；分子量約為  $2 \times 104$  g/mole 的組別觀察到之型態如圖 7(b)所示，由於此時高分子內部的疏水性質提升，高分子發生之緊縮情形更為明顯，所形成之球狀型態粒徑較小，然而此型態之親疏水性質差異不足，形成之顆粒之親水部分易與其他顆粒碰撞結合，導致在電子顯微鏡下觀察到大量之聚集；在分子量為  $4 \times 104$  g/mole 的組別下 PNIPAAm 的疏水性質更為明顯，與末段改質之羧基之間產生足夠之親疏水性差異，觀察到之型態如圖 7(c)所示，在高溫環境中可以得到穩定分散之球狀自組裝型態。

### 3.3 Poly(NIPAAm-block-AA)之合成

#### 3.3.1 分子結構檢定

利用前一步驟所合成得到之 RAFT-PNIPAAm 做為高分子型鏈段轉移劑進行 AA 之合成，當反應進行時，自由基攻擊鏈段轉移劑使 PNIPAAm 之自由基鏈段產生並與單體 AA 反應生成 poly(NIPAAm-block-AA)；反應持續在單體與鏈轉移劑之間反應，最後生成之鏈段終結於鏈段起始劑上，所得之產物為 poly(NIPAAm-block-AA-block-NIPAAm) 之三段塊狀共聚物。

本實驗中利用 NMR 進行產物之分子結構檢定，藉由所得圖譜峰值下面積之比值能夠推算出其分子鏈段中對應官能基之比例，藉此計算高分子鏈段中 PNIPAAm 與 PAA 鏈段長度之比例；使用前述方法合成出之樣品進行 NMR 之測試後得到之圖譜如圖 7 所示，其主要特徵官能基上的氫原子訊號與對應之峰值為：甲基 (-CH<sub>3</sub>) : 1.2ppm、異丙基 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>H) : 4ppm、主鏈未接官能基之位置 (-CH<sub>2</sub>-) : 1.6ppm、主鏈有接官能基之位置 (-CRH-) : 2.1ppm、氨基 (-NH-) : 8ppm、羧基 (-COOH) : 12ppm。其中氨基與羧基之氫原子亦發生游離現象，解離子氫離子與溶液之中之氫原子發生交換使所得訊號受到干擾，故這兩個基團之峰值不適合做為比較之用。

以單純的 PNIPAAm 高分子在 NMR 儀器中所得的圖譜之中，根據高分子中對應位置所含有之氫原子數量，可得知特徵峰值的比值為： $\langle$ 異丙基 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>H, a)  $\rangle$  :  $\langle$ 主鏈有接官能基之位置 (-CRH-, b)  $\rangle$  :  $\langle$ 主鏈未接官能基之位置 (-CH<sub>2</sub>- c)  $\rangle$  :  $\langle$ 甲基 (-CH<sub>3</sub>, d)  $\rangle$  = 1 : 1 : 2 : 6 (編碼對照圖 7)，如果此時在 PNIPAAm 上進行 PAA 的合成製備嵌段共聚合物，NIPAAm 側鏈附有之異丙基與甲基的訊號比值將不會改變；然而隨著 PAA 的合成，高分子主鏈延長的結果導致側鏈上異甲基與主鏈位置的訊號比值變化，從此值便可推算此高分子鏈段中 NIPAAm 與 AA 重複單元之比例。在不同組別的單體進料量下進行合成所得產物之中 NIPAAm 與 AA 重複單元比例整理則如表 5 所示。

實驗結果方面，以 AA 單體進料較多的 N100A200 組別進行測試得到之頻譜如圖 9，此時 b 與 a 之峰值比值較大，顯示隨 AA 單體進藥越多，能夠將 AA 在高分子鏈段中所佔之比例調整增加，換算後得知鏈段中 NIPAAm；

AA=1 : 0.5，因為此時所用之 PNIPAAm 約包含有 100 個 NIPAAm 單體，可推知有 50 個 AA 單體包含在 PAA 鏈段之中；以同樣方式計算 N100A100 組別的頻譜中峰值之比例(如圖 8)得到產物中 NIPAAm : AA=1 : 0.2，從 N100A50 組別的頻譜(如圖 7)計算則得知此組別的組成比例為 NIPAAm : AA=1 : 0.1；為方便比較，依照產物測得之組成比例將之標示為 PN<sub>x</sub>-b-A<sub>y</sub>，x 為組成中 NIPAAm 重複單元之數量，y 則是組成中 AA 重複單元之數量。

#### 3.3.2 LCST 現象檢定

高分子鏈段中 PNIPAAm 具有在高溫下疏水之特性，而 PAA 則在酸性環境下大部分羧基為未解離的狀態而能夠與 PNIPAAm 產生分子內氫鍵，因此隨著嵌段共聚合物之中 PNIPAAm 與 PAA 兩者所佔比例不同，產物展現出之環境感應性質也隨著改變。本測試對具有不同 PNIPAAm 與 PAA 比例之高分子溶液，調整環境之酸鹼值並測試其溫度敏感之性質，所得結果如圖 10 所示；在 PN100-b-A10 的組別中，高分子鏈段中 PAA 所佔比例較少，其高分子鏈段大部分仍呈現 PNIPAAm 之性質，開始發生疏水化現象之 LCST 值對照單一組成 PNIPAAm 之結果(圖 5(a))可發現親疏水之轉換溫度並沒有明顯改變，pH4 環境下約為 33°C，而 pH7 與 pH10 的環境下則約為 38°C 左右；然而由於羧基的參與使 PNIPAAm 的疏水現象稍微弱化，親疏水之差異變小，因此其 UV 吸收值隨溫度改變之區間較大，PN100 的組別，pH4 的情形下改變的區間約為 33°C~34°C，PN100-b-A10 的改變區間則約為 33°C~43°C，代表此時羧基的親水性質使部分鏈段之 LCST 溫度略微上升。

而在 PN100-b-A20 與 PN100-b-A50 的組別中，隨著鏈段中 PAA 鏈段的增加，此時未解離羧基與 PNIPAAm 之間產生之分子內或者分子間之氫鍵效應逐漸明顯，酸性環境下可觀察到 LCST 溫度下降到約 27°C；而 pH7 的環境下，完全解離之 PAA 的疏水性質導致 LCST 上升，在 PAA 所佔比例較高的組別上升幅度較大，PN100-b-A20 在 pH7 之環境測得 LCST 約為 37°C，而同環境下 PN100-b-A50 組別所測得之 LCST 則約為 42°C。

整體來說，高分子組成中含 PAA 的組別對於溫度之感應性質受到羧基親水性的影響，感應之效果不如單一 PNIPAAm 明顯，並且由於鏈段中羧基為部分解離，對於疏水性質的影響呈現連續的變化，因此高分子親疏水性隨溫度改變之區間也隨之變得更加廣泛；而在鹼性環境下，此時羧基幾乎完全解離的狀態，高分子呈現高度親水的狀態，使 PNIPAAm 在高溫下呈現的疏水溫度感應性質無法明顯被觀察到。

此系統所製備之高分子，溫度感應性質不比單一組成之 PNIPAAm 高分子敏感，然而廣泛之溫度感應範圍顯示此高分子顆粒可以應用於更多不同的溫度條件之下；從文獻得知 PAA 之 pKa 約為 4.589，當酸鹼值大於 pKa 的環境中，鏈段中羧基大部分為解離狀態，導致溫度感應性質大幅減弱，必須在較高之溫度才能觀察到疏水變化之發生，因此此高分子之應用環境為酸性會較為恰當；對於學術的研究方面，當羧基解離呈現良好親水性的同時，PNIPAAm 鏈段在高溫下呈現疏水形成的親疏水性差異是促使高分子在溶液中進行自組裝的驅動力，且酸性環境之中尚未解離的羧基與 PNIPAAm 之間產生之氫鍵作用力容易引起大量聚集，使組裝型態無法穩定，故後續自組裝現象之觀察根據前述所提之討論，選用 pH10 鹼性環境下進行自組裝現象的觀察。

#### 3.3.3 分子自組裝現象觀察

前述步驟所合成得到之 poly(NIPAAm-block-AA) 溶於 pH7 的去離水中，升溫到 50°C 使分子進行自組裝後在電子顯微鏡觀察到其形態，並比較同樣 NIPAAm 鏈段下合成不同長度之 AA 對於結果的影響；在 PN100A10 的組別中，高分子中所含之 AA 鏈段長度較少，此時對於自組裝型態的改變並不明顯，觀察到的形態仍以球狀為主，然而此時鏈段中 PNIPAAm 部分較為疏水而呈現顏色較

深的區塊，而 AA 部分為親水性質，分子鏈段在水中為舒張之狀態，在電子顯微鏡下觀察到的區域則顏色較淺，如圖 11(a)所示。

觀察圖 11(b)，在 PN100A20 組別的比例下，隨著 AA 所佔之長度增加，高分子中親疏水區域之比例改變使自組裝之型態發生改變，高分子中疏水鏈段聚集為為灰色塊狀區域，而親水鏈段則分佈於塊狀外圍使型態能夠穩定；當 AA 鏈段之長度再度增加，AA 鏈段在自組裝型態中所佔之體積也會隨之提高，在 N100A50 的組別中便可以到觀察蠕蟲狀之自組裝型態如圖 11(d)；其中內層深色區域為疏水區域，外層則包覆著灰色之親水區域。

然而在 PN100A20 組別的顯微結構中，除了嵌段共聚合物自組裝行程之灰色塊狀區域外，尚可觀察到許多黑色小顆粒散佈在環境之中，此為未接有 PAA 的 PNIPAAm，呈現明顯疏水性質而緊縮分佈於系統中；觀察到此現象便代表此時的產物中除了 poly(NIPAA-b-AA) 之外，仍存有 PNIPAAm 或者是 PAA 的 homopolymer 存在。PAA 的 homopolymer 對於溫度不具有感應性，在高溫環境下不發生析出；而 PNIPAAm 對於酸鹼的感應性質則不敏感，在酸性環境不因為大量分子內氫鍵的存在而發生沉澱；根據 homopolymer 與所得之嵌段共聚合物在不同環境下的不同性質，可藉由溫度與酸鹼的調控，將欲純化之嵌段共聚合物與產物中不需要之部分分離並且萃取得到所需之產物，純化後之嵌段共聚合物在高溫下進行自組裝所得到之型態如圖 11(c)所示，與未純化的圖 11(b)比較之下可以發現，背景的黑色小顆粒大幅減少，顯示 homopolymer 的部分已經被洗去，只留下嵌段共聚合物的部分進行自組裝。

當嵌段共聚合物中 PNIPAAm 與 PAA 之比例改變，自組裝之型態也隨之發生變化，不同的自組裝型態諸如球狀或者層狀與條狀都可能在不同的比例下被觀察到，根據其形態之中疏水段落所佔的體積以及親水鏈段的表面積對於其載藥或藥物釋放性有不同的影響是值得未來持續進行研究的目標之一。

#### 4、結論

本實驗藉 RAFT 法合成 poly(NIPAAm-block-AA)，在高溫下由於 PNIPAAm 與 PAA 之親疏水性差異，能產生自組裝之現象。首先將利用界面催化劑合成之鏈段轉移劑引入氧化還原之起始系統，便可以對於合成所得 PNIPAAm 達到分子量與分子量分佈之控制，在 N400 的組別中可得到數量平均分子量為 40300 且 PDI 在 1.3 以下之高分子。根據鏈轉移劑之性質，此時合成之 PNIPAAm 兩端均被改質為羧基，在不同的酸鹼環境下對於溫度之感應性質也因此產生改變；隨高分子分子量的增加，末端造成之影響越小，末端與高分子長鏈之間親疏水性質也更加明顯，在 N400 的組別中可以觀察到在高溫中發生自組裝形成之球狀型態。

此系統所合成之 PNIPAAm 可做為高分子型鏈段轉移劑進行下一步反應與 AA 單體合成，利用 NMR 鑑定所得產物之中 PNIPAAm 與 PAA 之比值，從所得圖譜下特徵峰值之面積可以證明此反應中成功的將 PAA 反應接枝在 PNIPAAm 鏈段上而形成了 poly(NIPAAm-block-AA)，生成之 PAA 鏈段隨進藥單體量增加而增加，在 N100A200 的組別中可計算得所得產物中 NIPAAm 重複單元約有 100 個，而 AA 之重複單元則約有 50 個。在不同的 PNIPAAm 與 PAA 比例的高分子溶液中可觀察到不同型態之自組裝結果，當 PNIPAAm 所佔比例較大時自組裝傾向於球狀，而 PAA 增加時高分子自組裝之型態則逐漸轉變為類似層狀排列之蠕蟲狀。根據不同之自組裝所得之型態能夠有不同之藥物釋放結果，會是未來研究之方向與重點之一。

#### 5、參考文獻

- (1) Matsumoto, T.; Chri, A., Kobunshi Kagaku, 1965, 22.
- (2) Hoff, V. d. B.M.E. "the advances in chemistry series", J Am Chem Soc, 1967, 34.
- (3) Cox, R. A.; Wilkinson, M. C., Journal of Polymer Science, 1977, 15.
- (4) Goodall, A. R.; Wilkinson, M. C.; Hearn, M. C., Journal of Polymer Science - Polymer Chemistry Edition, 1977, 15.
- (5) Chen, C. Y.; Pirma, I., journal of Polymer Science, 1980, 18.
- (6) Van der Hoff, J. W., Journal of Polymer Science. Polymer Symposia Edition, 1985, 72.
- (7) Priest, W. J. Particle Growth in the Aqueous Polymerization of Vinyl Acetate, J Phys Chem-US, 1952, 56, 1077.
- (8) Hansen, F. K.; Ugelstad, J. Particle Nucleation in Emulsion Polymerization .2. Nucleation in Emulsifier-Free Systems Investigated by Seed Polymerization, J Polym Sci Pol Chem, 1979, 17, 3033.
- (9) Hansen, F. K.; Ugelstad, J. Particle Nucleation in Emulsion Polymerization .3. Nucleation in Systems with Anionic Emulsifier Investigated by Seeded and Unseeded Polymerization, J Polym Sci Pol Chem, 1979, 17, 3047.
- (10) Hansen, F. K.; Ugelstad, J. Particle Nucleation in Emulsion Polymerization .4. Nucleation in Monomer Droplets, J Polym Sci Pol Chem, 1979, 17, 3069.
- (11) Fan, L. T.; Singh, S. K. Controlled release : a quantitative treatment; Springer-Verlag: Berlin ; New York, 1989.
- (12) Dong, L.-c.; Hoffman, A. S. A novel approach for preparation of pH-sensitive hydrogels for enteric drug delivery, Journal of Controlled Release, 1991, 15, 141.
- (13) Flory, P. J. The mechanism of vinyl polymerizations, J Am Chem Soc, 1937, 59, 241.
- (14) Flory, P. J. Principles of polymer chemistry; Cornell University Press: Ithaca,, 1953
- (15) Odian, G. G. Principles of polymerization; 3rd ed.; Wiley: New York, 1991.
- (16) Shipp, D. A. Living radical polymerization: Controlling molecular size and chemical functionality in vinyl polymers, J Macromol Sci-Pol R, 2005, C45, 171.
- (17) Beckwith, A. L. J.; Bowry, V. W.; Oleary, M.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Solomon, D. H. Kinetic Data for Coupling of Primary Alkyl Radicals with a Stable Nitroxide, J Chem Soc Chem Comm, 1986, 1003.
- (18) Kamigaito, M.; Ando, T.; Sawamoto, M. Metal-catalyzed living radical polymerization, Chem Rev, 2001, 101, 3689.
- (19) Matyjaszewski, K.; Xia, J. H. Atom transfer radical polymerization, Chem Rev, 2001, 101, 2921
- (20) Rizzardo, E.; Chiefari, J.; Mayadunne, R.; Moad, G.; Thang, S. Tailored polymer architectures by reversible addition-fragmentation chain transfer, Macromol Symp, 2001, 174, 209.
- (21) Rizzardo, E.; Chong, Y. K.; Evans, R. A.; Moad, G.; Thang, S. H. Control of polymer structure by chain transfer processes, Macromol Symp, 1996, 111, 1.
- (22) Rizzardo, E.; Meijis, G. F.; Thang, S. H. Chain Transfer by Radical Addition-Fragmentation Mechanisms - Synthesis of Macromonomers and End-Functional Oligomers, Macromol Symp, 1995, 98, 101.
- (23) Barner-Kowollik, C.; Quinn, J. F.; Nguyen, T. L. U.; Heuts, J. P. A.; Davis, T. P. Kinetic investigations of reversible addition fragmentation chain transfer polymerizations: Cumyl phenyldithioacetate mediated homopolymerizations of styrene and methyl methacrylate, Macromolecules, 2001, 34, 7849.
- (24) Donovan, M. S.; Lowe, A. B.; Sumerlin, B. S.; McCormick, C. L. Water-soluble polymers part 85 - Raft polymerization of N,N-dimethylacrylamide utilizing novel chain transfer agents tailored for high reinitiation efficiency and structural control, Macromolecules, 2002, 35, 4123.

- (25) 周玉蕙 溫度感應型磁性乳膠顆粒之製造與研究, 台大化工碩士論文, 2004.
- (26) 林家正 磁性溫感型乳膠顆粒之製造與研究, 台大化工碩士論文, 2006.
- (27) 林佳龍 聚(氯-異丙基丙烯醯胺)衍生溫度感應型共聚微膠體：製備，性質及應用，台大材料所博士論文, 2005.
- (28) 溫家貞 聚氯-異丙基丙烯醯胺與幾丁聚醣共聚乳膠顆粒之合成及其在藥物釋放上的應用，台大材料所碩士論文, 2001.
- (29) 簡正安 標的導向型磁性免疫中空藥物載體之製備與研究, 台大高分子所碩士論文, 2008.
- (30) Lai, J. T.; Filla, D.; Shea, R. Functional polymers from novel carboxyl-terminated trithiocarbonates as highly efficient raft agents., Abstr Pap Am Chem S, 2002, 224, U475.
- (31) Bai, W.; Zhang, L.; Bai, R.; Zhang, G. Z. A very useful redox initiator for aqueous RAFT polymerization of N-isopropylacrylamide and acrylamide at room temperature, Macromol Rapid Comm, 2008, 29, 562.
- (32) Schilli, C. M.; Zhang, M. F.; Rizzardo, E.; Thang, S. H.; Chong, Y. K.; Edwards, K.; Karlsson, G.; Muller, A. H. E. A new double-responsive block copolymer synthesized via RAFT polymerization: Poly(N-isopropylacrylamide)-block-poly(acrylic acid), Macromolecules, 2004, 37, 7861.
- (33) Govender, T.; Ehtezazi, T.; Stolnik, S.; Illum, L.; Davis, S. S. Complex Formation Between The Anionic Polymer (PAA) and a Cationic Drug (Procaine HC1): Characterization by Microcalorimetric Studies, Pharmaceutical Research, 1999, 16, 1125.

合成產物		CMP
合成 配方	CS2	2.74g
	Chloroform	10.75g
	Acetone	5.23g
	Mineral spirit	12ml
	TBAH	0.241g
	H2O	90ml
	NaOH	20.16g
	HCl	12ml

表 1. 鏈段轉移劑 CMP 合成配方。

合成產物		RAFT-Poly(NIPAAm)		
合成 配方	N100	N200	N400	
	0.509g	1.018g	2.036g	
	0.012g	0.012g	0.012g	
	0.003g	0.003g	0.003g	
	0.0021g	0.0021g	0.0021g	
	20ml	20ml	20ml	

表 2. 第二階段合成 RAFT-Poly(NIPAAm)之配方。

合成產物		RAFT-Poly(NIPAAm)-block-Poly(AA)		
合 成 配 方	N100A50	N100A100	N100A200	
	0.162g	0.324g	0.648g	
	0.45g	0.45g	0.45g	
	0.003g	0.003g	0.003g	
	0.0021g	0.0021g	0.0021g	
	20ml	20ml	20ml	

表 3. 第三階段合成 RAFT-Poly(NIPAAm)-block-Poly(AA)之配方。

產物	[M0]/[CTA]	轉化率	Mn, exp.	Mn, theor.	PDI
N100	100	95%	11500	11000	1.08
N200	200	92%	18500	21057	1.16
N400	400	89%	40300	40493	1.28

表 4. 不同配方下所進行之反應結果

Sample name	[AA]/[PNIPAAm]	N <sub>NIPAAm</sub> : N <sub>AA</sub> in a polymer chain	Product name
N <sub>100</sub> A <sub>50</sub>	50	100 : 10	PN <sub>100</sub> -b-A <sub>10</sub>
N <sub>100</sub> A <sub>100</sub>	100	100 : 20	PN <sub>100</sub> -b-A <sub>20</sub>
N <sub>100</sub> A <sub>200</sub>	200	100 : 50	PN <sub>100</sub> -b-A <sub>50</sub>

表 5. 不同配方下合成 poly(NIPAAm-b-AA)之結果

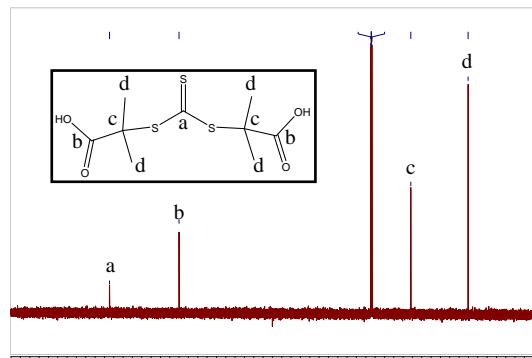


圖 1. 鏈段轉移劑 CMP 之 NMR-C13 頻譜  
(使用溶劑: d-chloroform)

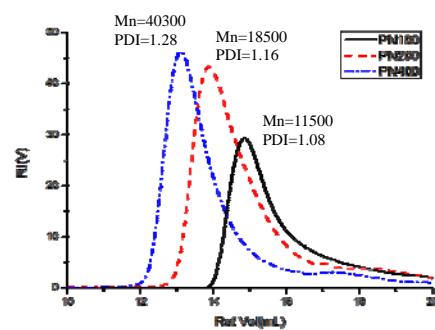


圖 2. 不同的單體與鏈段轉移劑比例下所合成出 PNIPAAm 之 GPC 圖  
(使用溶劑: THF, 測試溫度=40°C)

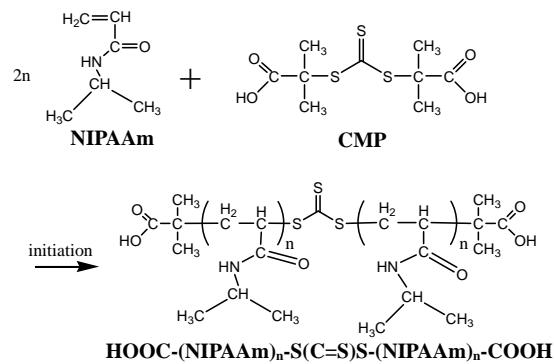


圖 3. 含鏈段轉移劑 CMP 之系統合成 polyNIPAAm 之反應示意圖

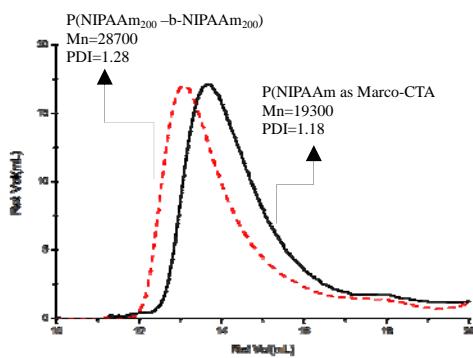


圖 4. 利用 CMP 合成 PNIPAAm 之鏈段延長性質檢定之 GPC 圖  
(使用溶劑：THF，測試溫度=40°C)

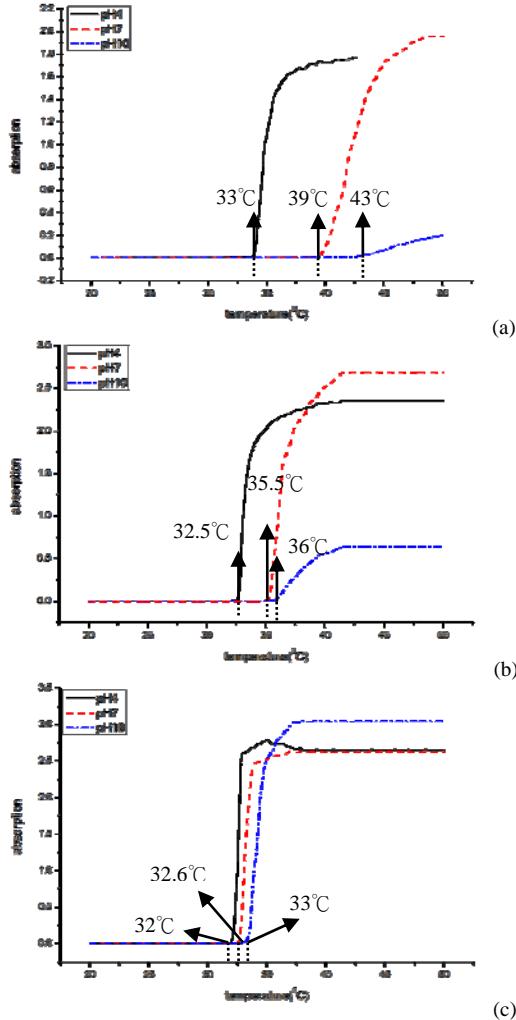
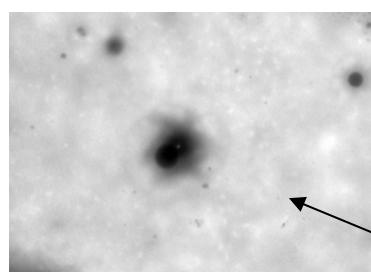
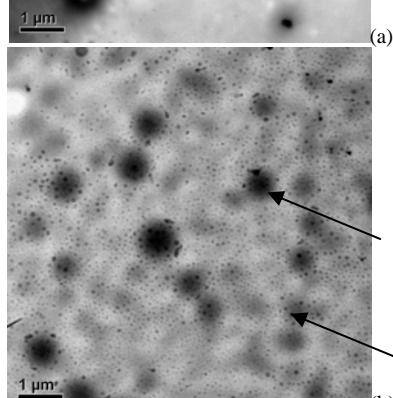


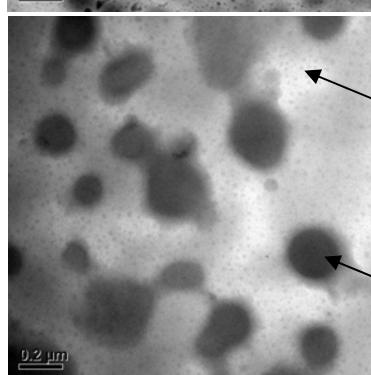
圖 5. PNIPAAm-COOH 在不同分子量下的 LCST 檢定圖  
(a) Mn=11,500 g/mole  
(b) Mn=18,500 g/mole  
(c) Mn=40,300 g/mole



無特定自組裝型  
態之高分子聚集



高分子自組裝顆粒  
緩衝溶液中  
之鹽類結晶



緩衝溶液中  
之鹽類結晶  
高分子自組裝顆粒

圖 6. PNIPAAm-COOH 在不同分子量下的 LCST 檢定圖  
(a) Mn=11,500 g/mole  
(b) Mn=18,500 g/mole  
(c) Mn=40,300 g/mole

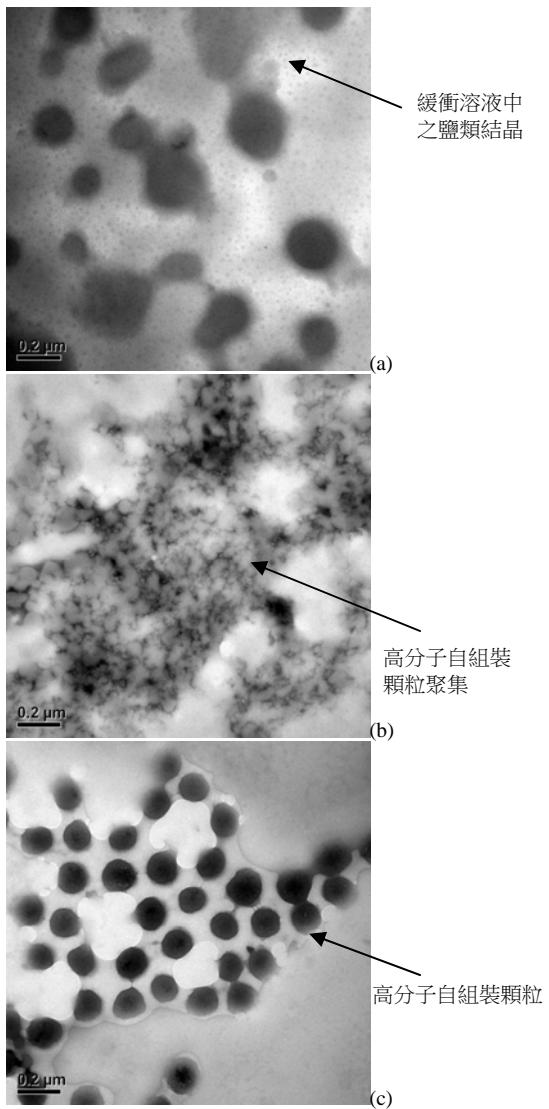


圖 7. 不同分子量之 PNIPAAm-COOH (pH=10) 之顯微結構圖  
 (a)Mn=11,500 g/mole  
 (b)Mn=18,500 g/mole  
 (c)Mn=40,300 g/mole  
 (觀察溫度=50°C，環境 pH=10)

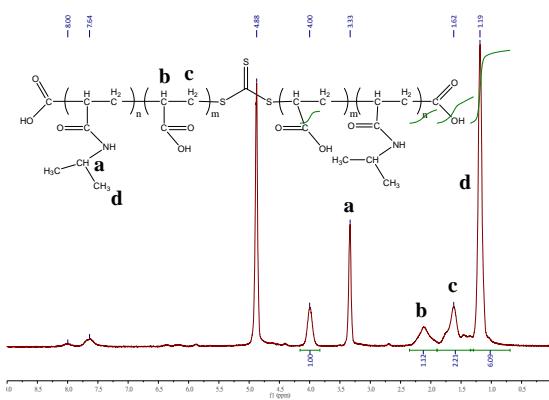


圖 7. N100A50 之 NMR-H1 頻譜以及官能基與峰值對照  
(使用溶劑：d-methanol)

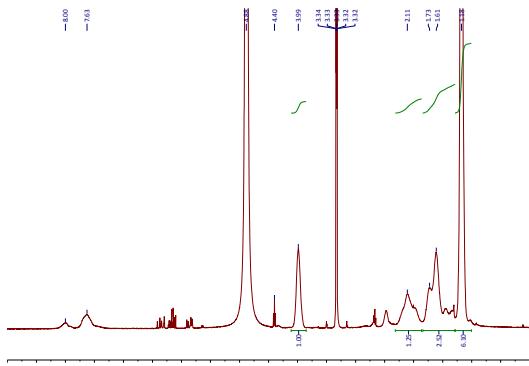


圖 8、N100A100 之 NMR- H1 頻譜  
(使用溶劑：d-methanol)

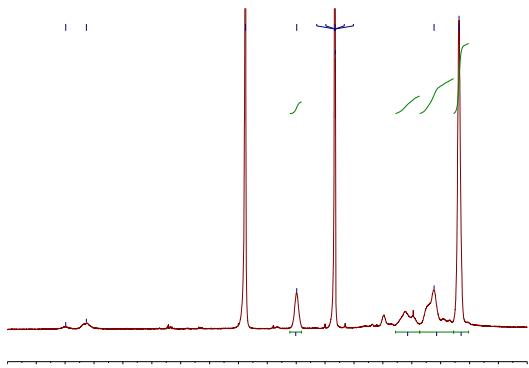


圖 9、N100A200 之 NMR-H1 頻譜  
(使用溶劑：d-methanol)

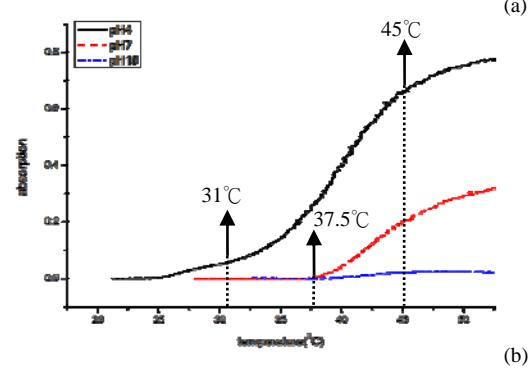
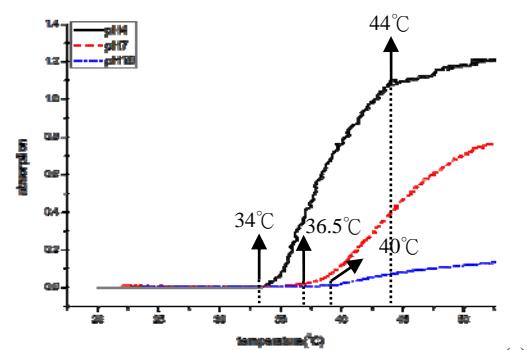


圖 7. N100A50 之 NMR-H1 頻譜以及官能基與峰值對照  
(使用溶劑: *d*<sub>4</sub>-methanol)

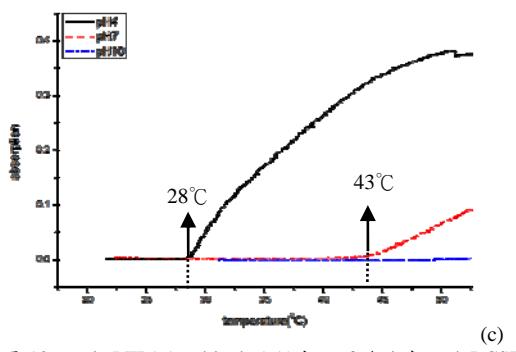


圖 10、poly(NIPAAm-block-AA)在不同酸鹼度下的 LCST 檢定圖  
 (a)PN100-b-A10    (b) PN100-b-A20    (c)PN100-b-A50

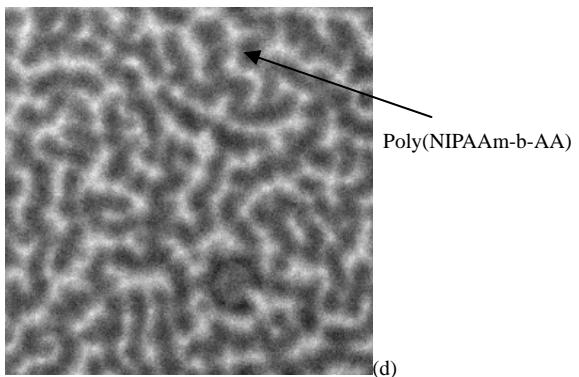
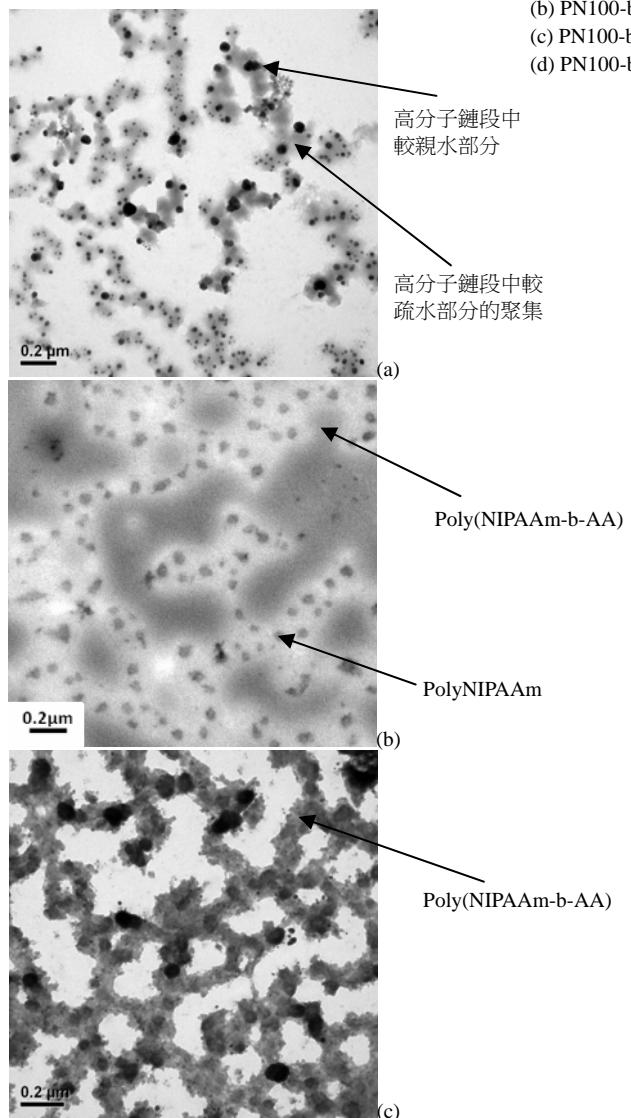


圖 11 poly(NIPAAm-block-AA)在不同組成下之顯微結構圖

- (a) PN100-b-A10
- (b) PN100-b-A20 (純化前)
- (c) PN100-b-A20 (純化後)
- (d) PN100-b-A50 (觀察溫度=50°C，環境 pH=7)



# 國科會補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2011/09/12

國科會補助計畫	計畫名稱: 新型Fe3O <sub>4</sub> /living block copolymer之合成及其自組裝微胞型態與藥物釋放之研究
	計畫主持人: 李佳芬
	計畫編號: 99-2221-E-041-004- 學門領域: 綠色與生醫高分子

無研發成果推廣資料

## 99 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：李佳芬		計畫編號：99-2221-E-041-004-				
計畫名稱：新型 Fe3O4/living block copolymer 之合成及其自組裝微胞型態與藥物釋放之研究						
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數(含實際已達成數)	本計畫實際貢獻百分比		
國內	論文著作	期刊論文	0	1	100%	
		研究報告/技術報告	1	1	100%	
		研討會論文	0	1	100%	
		專書	0	0	100%	
	專利	申請中件數	0	0	100%	
		已獲得件數	0	0	100%	
	技術移轉	件數	0	0	100%	件
		權利金	0	0	100%	千元
	參與計畫人力 (本國籍)	碩士生	0	0	100%	
		博士生	0	0	100%	
		博士後研究員	0	0	100%	
		專任助理	0	0	100%	
國外	論文著作	期刊論文	0	2	100%	
		研究報告/技術報告	0	0	100%	
		研討會論文	0	0	100%	
		專書	0	0	100%	章/本
	專利	申請中件數	0	0	100%	
		已獲得件數	0	0	100%	
	技術移轉	件數	0	0	100%	件
		權利金	0	0	100%	千元
	參與計畫人力 (外國籍)	碩士生	2	2	100%	
		博士生	0	0	100%	
		博士後研究員	0	0	100%	
		專任助理	0	0	100%	

<p><b>其他成果</b>            (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>本研究對於醫藥領域具有貢獻，能夠使得藥物具有更理想的功能性，除了能夠減少治療過程中副作用的產生，更能夠使得藥物直接針對病灶作治療，增進了治療的效果。</p>
--	---

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科教處計畫加填項目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
計畫成果推廣之參與（閱聽）人數		0	



# 國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

## 1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

### ■達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

## 2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文：已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利：已獲得 申請中 無

技轉：已技轉 洽談中 無

其他：(以 100 字為限)

## 3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）(以 500 字為限)

本計畫研究開發出'Fe3O<sub>4</sub>/block copolymer 磁性複合微胞載體'其具有三種功能：1. 可經由外在磁場的引導而標定在特定的組織上針對病變組織做直接的治療，如此達到標的治療的功效，此外也可直接藉由 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 所發出的熱源來破壞腫瘤組織細胞，達到熱炙治療腫瘤組織的目的 2. 由於此載體是微胞型態，因此不受微胞空間的限制而可包覆大量的藥物，提升載體的藥物包覆效率 3. 此微胞載體具有高藥物包覆效率，只須少量的載體即可達到所需的藥物劑量，可使磁場更有效的引導磁性微胞載體到達細胞病變的組織上。本研究對於醫藥領域具有貢獻，能夠使得藥物具有更理想的功能性，除了能夠減少治療過程中副作用的產生，更能夠使得藥物直接針對病灶作治療，增進了治療的效果。