



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I462753 B

(45) 公告日：中華民國 103 (2014) 年 12 月 01 日

(21) 申請案號：100143761

(22) 申請日：中華民國 100 (2011) 年 11 月 29 日

(51) Int. Cl. : *A61K9/58 (2006.01)**B01D3/08 (2006.01)**B01J13/02 (2006.01)*

(71) 申請人：國立交通大學 (中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)

新竹市大學路 1001 號

(72) 發明人：廖邦傑 LIAO, BANGJIE (TW)；胡尚秀 HU, SHANGHSIU (TW)；陳三元 CHEN, SANYUAN (TW)

(74) 代理人：蔡坤財；李世章

(56) 參考文獻：

US 20090162407A1

審查人員：徐永任

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：16 共 42 頁

(54) 名稱

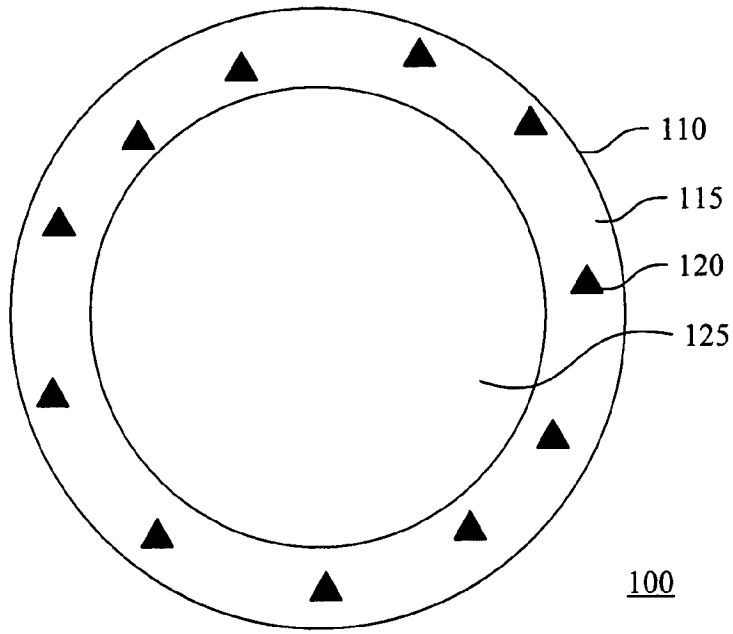
雙乳化核殼奈米結構及其製備方法

DOUBLE EMULSION CORE-SHELL NANO STRUCTURE AND PREPARATION METHODS THEREOF

(57) 摘要

本發明提供一種雙乳化核殼奈米結構及其製備方法。雙乳化核殼奈米結構係由油相殼包覆水相核而成。可藉由使用單一混合攪拌步驟來乳化水溶性高分子之水溶液與疏水性順磁奈米粒子之有機溶液，而可製得雙乳化核殼奈米結構。

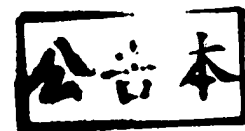
A double-emulsion core-shell nano structure and preparation methods thereof is provided. The double-emulsion core-shell nano structure is a structure of an oil shell enclosing a water core. The double-emulsion core-shell nano structure can be prepared by simply mixing and stirring to emulsify an aqueous solution of a water soluble polymer and an organic solution of hydrophobic paramagnetic nanoparticles.



- 100 . . . 雙乳化核殼
奈米結構
- 110 . . . 油相殼
- 115 . . . 水溶性高
分子
- 120 . . . 疏水性順磁
奈米粒子
- 125 . . . 水相核

第 1A 圖

發明專利說明書



(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 100143761 A61K 9/58 (2006.01)
 ※申請日： 100.11.29 ※IPC 分類： B01D 3/08 (2006.01)
 B01J 13/02 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

雙乳化核殼奈米結構及其製備方法

Double Emulsion Core-Shell Nano Structure and
Preparation Methods Thereof

二、中文發明摘要：

本發明提供一種雙乳化核殼奈米結構及其製備方法。雙乳化核殼奈米結構係由油相殼包覆水相核而成。可藉由使用單一混合攪拌步驟來乳化水溶性高分子之水溶液與疏水性順磁奈米粒子之有機溶液，而可製得雙乳化核殼奈米結構。

三、英文發明摘要：

A double-emulsion core-shell nano structure and preparation methods thereof is provided. The double-emulsion core-shell nano structure is a structure of an oil shell enclosing a water core. The double-emulsion core-shell nano structure can be prepared by simply mixing and stirring to emulsify an aqueous solution of a water soluble polymer and an organic solution of hydrophobic paramagnetic nanoparticles.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1A) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

100：雙乳化核殼奈米結構

110：油相殼

115：水溶性高分子

120：疏水性順磁奈米粒子

125：水相核

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於一種奈米結構與其製備方法，且特別是有關於一種雙乳化核殼奈米結構及其製備方法。

【先前技術】

目前已有一些由有機材料所製得之核殼奈米結構被應用來攜帶藥物，做為藥物的載體。這些有機的核殼奈米結構，例如有由雙脂肪層所構成之微脂體(liposome)或由兩性高分子所構成之微胞(micelle)，但是這些有機的核殼奈米結構通常有結構不穩定，或製程繁雜及不易控制等問題。

【發明內容】

因此，本發明之一態樣是在提供一種雙乳化核殼奈米結構，只需要使用單一混合攪拌的簡單乳化法即可製得。

上述之雙乳化核殼奈米結構由油相殼包圍水相核而組成，其中油相殼的組成包含水溶性高分子與疏水性順磁奈米粒子。水相核可以容納親水性藥物，油相殼可以容納疏水性藥物。

依據本發明一實施例，上述之水溶性高分子可為分子量 3,000 - 130,000 之聚乙烯醇或分子量 400,000 - 2,800,000 之聚乙烯吡咯烷酮。

依據本發明另一實施例，上述之疏水性順磁奈米粒子可為 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 CoFe_2O_4 或 MnFe_2O_4 。

本發明之另一態樣是在提供上述雙乳化核殼奈米結構

的製備方法。

依照本發明之一實施方式，雙乳化核殼奈米結構的單乳化製備方法包含下面步驟。首先，分別製備水溶液與有機溶液，水溶液含有水溶性高分子，有機溶液含有疏水性順磁奈米粒子。然後混合攪拌水溶液與有機溶液，形成乳液，並於乳液中形成上述之雙乳化核殼奈米結構。

依據本發明一實施例，還可分別在上述單乳化法之水溶液與有機溶液中選擇性地加入親水性藥物與疏水性藥物，讓雙乳化核殼奈米結構成為親水性藥物、疏水性藥物或其組合的載體。

依照本發明之另一實施方式，雙乳化核殼奈米結構的雙乳化製備方法包含下面步驟。首先，分別製備第一水溶液與有機溶液，第一水溶液含有親水性藥物與第一水溶性高分子，有機溶液含有疏水性順磁奈米粒子。混合攪拌水溶液與有機溶液，形成油包水乳液。再製備第二水溶液，其含有第二水溶性高分子。混合攪拌上述油包水乳液與第二水溶液，以形成水包油乳液，並於水包油乳液中形成上述之雙乳化核殼奈米結構。

依據本發明一實施例，還可在上述雙乳化法之有機溶液中加入疏水性藥物，形成同時攜帶有親水性藥物與疏水性藥物的雙乳化核殼奈米結構。

依據本發明另一實施例，在上述單乳化法或雙乳化法的製備方法中，疏水性順磁奈米粒子可為表面有疏水性官能基修飾之 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 CoFe_2O_4 或 MnFe_2O_4 微粒。

依據本發明又一實施例，在上述單乳化法或雙乳化法的製備方法中，混合攪拌的方法可為超音波震盪。

依據本發明再一實施例，在上述單乳化法或雙乳化法的製備方法中，在得到所需之雙乳化核殼奈米結構之後，還可以再進行去除有機溶劑的步驟，使所得之雙乳化核殼奈米結構適於應用在生物體內。

依據上述可知，不需要加入任何的界面活性劑，只需要簡單的混合攪拌步驟即可製得可做為藥物載體的雙乳化核殼奈米結構。

上述發明內容旨在提供本揭示內容的簡化摘要，以使閱讀者對本揭示內容具備基本的理解。此發明內容並非本揭示內容的完整概述，且其用意並非在指出本發明實施例的重要/關鍵元件或界定本發明的範圍。在參閱下文實施方式後，本發明所屬技術領域中具有通常知識者當可輕易瞭解本發明之基本精神及其他發明目的，以及本發明所採用之技術手段與實施態樣。

【實施方式】

為了使本揭示內容的敘述更加詳盡與完備，下文針對本發明的實施態樣與具體實施例提出了說明性的描述；但這並非實施或運用本發明具體實施例的唯一形式。實施方式中涵蓋了多個具體實施例的特徵以及用以建構與操作這些具體實施例的方法步驟與其順序。然而，亦可利用其他具體實施例來達成相同或均等的功能與步驟順序。

雙乳化核殼奈米結構

請參照第 1A 圖，其繪示依照本發明一態樣的一種雙乳乳化核殼奈米結構剖面結構示意圖。在第 1A 圖中，雙乳乳化核殼奈米結構 100 係由油相殼 110 包圍水相核 125 而成，而油相殼 110 的組成包含水溶性高分子 115 與疏水性順磁奈米粒子 120。

上述之水溶性高分子 115 例如可為聚乙醇醇(polyvinyl alcohol; PVA)或聚乙醇吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone; PVP)。由於水溶性高分子的親水性高低與其分子量大小(意即分子鏈長度)有關，所以若水溶性高分子的分子量太低，在水中溶解度太好，將使其無法形成雙乳乳化核殼奈米結構 100。但是，若水溶性高分子的分子量太高，其親水性太差，則只能形成實心的高分子球體。因此，依據一實施例，上述之聚乙醇醇之分子量為 3,000 - 130,000，較佳為 3,000 - 78000，而上述之聚乙醇吡咯烷酮之分子量為 400,000 - 2,800,000，較佳為 560,000 - 1,300,000。

一般界面活性劑的化學結構通常是分子鏈的一端為親水性，一端為疏水性，因此通常只能穩定一個油水界面，不易形成具有核殼結構之微粒。除非形成脂肪雙層(lipid bilayer)的結構，界面活性劑才有機會形成具有核殼結構的微脂體(liposome)。

但是，水溶性高分子與界面活性劑不同。以聚乙醇醇為例，其具有多個親水性的氫氧基(-OH)。由於聚乙醇醇的分子鏈可以旋轉，因此可以將其氫氧基朝向水相核 125 內以及油相殼 110 外的水溶液，而能同時穩定兩個油水界面，形成雙乳乳化核殼奈米結構 100。

上述之疏水性順磁奈米粒子 120 的材料例如可為表面

有疏水性官能基修飾之 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 CoFe_2O_4 或 MnFe_2O_4 奈米粒子，上述之疏水性官能基例如可為長鏈烷基或長鏈烯基，例如可為油酸或油胺之類的分子。疏水性順磁奈米粒子 120 具有穩定油相殼 110 結構的功能，使其不易坍塌。此外，除了可作為核磁共振顯影 (magnetic resonance imaging; MRI) 的顯影劑之外，還可在外加交流磁場 (alternative magnetic field; AMF) 下，利用磁流體過熱 (magnetic fluid hyperthermia; MFH) 現象來進行局部加熱，破壞油相殼 110 的結構。

由於具有油相殼 110 與水相核 125 的結構，兩者可以用來分別容納疏水性藥物與親水性藥物。因此，上述雙乳化核殼奈米結構 100 可應用來做為疏水性藥物、親水性藥物或其任意組合的載體，並利用控制外加交流磁場的強度與開關來控制活性藥物的釋放速率。

請參考第 1B 圖，其係繪示利用雙乳化核殼奈米結構來同時做為親水性藥物以及疏水性藥物載體的剖面結構示意圖。在第 1B 圖中，親水性藥物 130 容納在雙乳化核殼奈米結構 100 的水相核 125 中，疏水性藥物 135 容納在雙乳化核殼奈米結構 100 的油相殼 110 中。

雙乳化核殼奈米結構的製備方法

雙乳化核殼奈米結構的製備方法，可簡單分為單乳化法以及雙乳化法。

第 2A 圖係繪示單乳化法的流程示意圖，較適合應用

來製備只含有親水性藥物或疏水性藥物的雙乳化核殼奈米結構，但不限於此。在第 2A 圖中，先分別製備水溶液(步驟 210a)與有機溶液(步驟 210b)，將兩者混合攪拌後(步驟 220)，形成含有雙乳化核殼奈米結構的乳液(步驟 230)。接著，去除乳液中的有機溶劑(步驟 260)，得到適於應用在生物體中的雙乳化核殼奈米結構(步驟 270)。

上述步驟 210a 的水溶液含有水溶性高分子以及水，並可選擇性地含有至少一種親水性藥物。上述步驟 210b 的有機溶液含有疏水性順磁奈米粒子與有機溶劑，並可選擇性地含有至少一種疏水性藥物。當有機溶液只含有疏水性順磁奈米粒子時，有機溶劑較佳為符合下述特性者：可有效地溶解或分散疏水性順磁奈米粒子、與水不互溶及沸點較低。當有機溶液也含有疏水性藥物時，除了上述特性外，有機溶劑較佳為還可同時有效地溶解或分散疏水性藥物。選用沸點較低的有機溶劑之因為可在不需加熱的情況下，輕易地去除有機溶劑，以免對雙乳化核殼奈米結構的外形造成不可控制之不良影響。例如可選擇沸點在 90 °C 以下的有機溶劑，如三氯甲烷、二氯甲烷、三氯乙烷或乙腈。

上述步驟 220 的混合攪拌方法，例如可為超音波震盪法。而步驟 260 的去除有機溶劑的方法，例如可為揮發法或減壓蒸餾法，而去除有機溶劑時的溫度較佳為低於 90 °C。

第 2B 圖係繪示雙乳化的流程示意圖，其可提高雙乳化核殼奈米結構對於親水性藥物的包覆率(encapsulation efficiency)，但不限於此。由於在第 2A 圖之單乳法中，只使用一次乳化步驟就形成水包油的乳液。因此，除了雙

乳化核殼奈米結構的水相核之外，親水性藥物亦可分布於雙乳化核殼奈米結構外的水相中，而使得親水性藥物的包覆率較低。所以，可以使用雙乳化法來增加親水性藥物的包覆率。

在第 2B 圖中，先分別製備第一水溶液(步驟 212a)與有機溶液(步驟 212b)。取少量的第一水溶液與多量的有機溶液，讓兩者進行第一次混合攪拌後(步驟 220)，形成油包水的乳液(步驟 232a)。此為第一階段的乳化步驟。

上述步驟 212a 之第一水溶液含有親水性藥物、水溶性高分子以及水，以利在第一階段的乳化步驟中讓親水性藥物就可以全部被包覆在油包水乳液之水滴中。上述步驟 212b 之有機溶液含有疏水性順磁奈米粒子與有機溶劑，並可選擇性地含有至少一種疏水性藥物。有機溶劑的選擇如上述第 2A 圖步驟 210b 所述，在此不再贅述之。

接著，製備第二水溶液(步驟 232b)。讓油包水乳液與第二水溶液進行第二次混合攪拌後(步驟 242)，再度形成含有雙乳化核殼奈米結構的水包油的乳液(步驟 252)。此為第二階段的乳化步驟。由於在第二階段的乳化步驟中要形成雙乳化核殼奈米結構，上述第二水溶液較佳為只含有水溶性高分子以及水，以利雙乳化核殼奈米結構可以有效地完整包覆親水性藥物。上述步驟 222 的第一混合攪拌方法與步驟 242 的第二混合攪拌方法，例如可為超音波震盪法。

最後，去除乳液中的有機溶劑(步驟 262)，得到適於應用在生物體中的雙乳化核殼奈米結構(步驟 272)。上述步驟 262 的去除有機溶劑的方法，例如可為室溫揮發法或減壓蒸餾法。

實施例一：包覆疏水性紫杉醇(Paclitaxel; PTX)

依照第 2A 圖的單乳化法，製備含有疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構。先分別製備濃度為 0.02 g/ml 的聚乙烯醇水溶液與有機溶液。上述聚乙烯醇水溶液所用之聚乙烯醇分子量分別為 16,000、47,000 及 61,000。上述之有機溶液所用的溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.03 g/ml 的紫杉醇與濃度為 0.02 g/ml 之表面包覆有油酸(Oleic acid)的 Fe_3O_4 奈米微粒(粒徑約 5 nm)。表面包覆有油酸的 Fe_3O_4 奈米微粒(以下簡稱為 IO-OA 奈米微粒)的製備方法，請見 Sun, S. H.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. X. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126, (1), 273-279。

讓 2.5 ml 水溶液與 1 ml 有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，再讓三氯甲烷於室溫下完全揮發。最後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，再讓其重新分散於去離子水中。

第 3A-3B 圖分別為所得之雙乳化核殼奈米結構的掃描式電子顯微鏡影像與穿透式電子顯微鏡影像。由於第 3A 圖之雙乳化核殼奈米結構經過真空乾燥處理，而且聚乙烯醇的分子鏈為軟鏈，因此其油相殼呈現碗狀或向內塌陷的情況。而在第 3B 圖中，可以看到雙乳化核殼奈米結構為一中空球體結構，並可看到 IO-OA 奈米微粒(顏色較深者)分散於油性殼中。

第 4 圖為利用動態光散射儀器分析雙乳化核殼奈米結構所得之粒徑分佈結果。由第 4 圖可知，不論是使用分子量為 16,000 (第 4A 圖)、47,000 (第 4B 圖)及 61,000 (第 4C 圖)的聚乙烯醇。其粒徑分佈都相當集中。而且從第 4D 圖可知，聚乙烯醇的分子量越大，粒徑也越大。

請參考表一，在表一中列出使用具有不同分子量的聚乙烯醇來製備含有疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構所得之一些相關測試數據。在表一中將雙乳化核殼奈米結構簡稱為載體，水相核簡稱為內核。

表一：使用具有不同分子量的聚乙烯醇來製備含有疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構

聚乙烯醇 分子量	內核直徑 (nm)	載體外徑 (nm)	PTX 包覆率(%)*	PTX 負載量 (mg/g 載體)
16k	108	158	97	8.78
47k	47	144	97	8.78
61k	31	137	96	8.69

$$* \text{包覆率}(\%) = \text{PTX 負載總量} / \text{PTX 總量} \times 100\%$$

由表一可知，聚乙烯醇的分子量越大時，親水性越差，而讓雙乳化核殼奈米結構內部的水相核體積越小，油相殼越厚。但是，疏水性紫杉醇的包覆率與負載量並無因此而有太大變化。而且從表一可知，雙乳化核殼奈米結構對於疏水性紫杉醇的包覆率相當大，超過 95% 以上。

接著，測試雙乳化核殼奈米結構的磁性相關性質。首

先，先使用超導量子干涉儀來分析 IO-OA 奈米微粒本身以及所得之雙乳化核殼奈米結構是否具有超順磁性，所得結果顯示在第 5 圖中。在第 5 圖中，由於不論 IO-OA 奈米微粒本身或所得之雙乳化核殼奈米結構均沒有發生磁滯迴路的現象，因此可得知兩者皆具有超順磁性。

然後，使用核磁共振影像(magnetic resonance image; MRI)分析所得之雙乳化核殼奈米結構之自旋-晶格遲緩時間 T_1 (spin-lattice relaxation time)及自旋-自旋遲緩時間 T_2 (spin-spin relaxation time)，所得結果顯示在第 6 圖中。在第 6 圖中可以看到雙乳化核殼奈米結構具有相當快的自旋-自旋遲緩速率 $R_2 (= 1/T_2)$ ，可達到 200，且為自旋-晶格遲緩速率 $R_1 (= 1/T_1)$ 之 50 倍左右。由此可知雙乳化核殼奈米結構適於應用為核磁共振影像的顯影劑。

第 7A-7B 圖為含有疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的紫杉醇自然釋放曲線與控制釋放曲線圖。由第 7A 圖可知，當聚乙烯醇的分子量越大，油相殼越厚時，亦表示油相殼中之聚乙烯醇的排列結構也越穩固。因此，使得在油相殼中之紫杉醇要釋放至外界的自然釋放速率越慢。由第 7B 圖可知，當在 5、12、17、23 分鐘打開強度為 200 Oe 之外加交流磁場 1 分鐘後，再關掉，可讓紫杉醇的濃度在外加交流磁場開啟時的對應時間內快速增加直至外加交流磁場關閉時。由此可知，外加交流磁場可讓雙乳化核殼奈米結構中之 IO-OA 奈米粒子振動而進行局部加熱，導致做為油相殼之聚乙烯醇溶解而釋放出紫杉醇。而且階段性的加熱，並不會破壞雙乳化核殼奈米結構。

實施例二：包覆親水性奈米金棒

依照第 2A 圖的單乳化法，製備含有親水性奈米金棒的雙乳化核殼奈米結構。先分別製備水溶液與有機溶液。上述水溶液含有濃度為 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量為 16,000)及過量的奈米金棒，奈米金棒的長度需小於載體粒徑。親水性奈米金棒的製備方法請見 Mitamura, K., Imae, T., Saito, N., and Takai, O., *The Journal of Physical Chemistry B* 111 (30), 8891 (2007)。上述之有機溶液所用的溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒(粒徑約 5 nm)。

讓 0.5 ml 水溶液與 0.2 ml 有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，再讓三氯甲烷於室溫下完全揮發。最後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，再讓其重新分散於去離子水中。

第 8 圖為含有親水性奈米金棒的雙乳化核殼奈米結構的穿透式電子顯微鏡影像。由第 8 圖可以看到親水性奈米金棒(即棒狀陰影處)位於雙乳化核殼奈米結構的水相核中，因此可知依據第 2A 圖的製備流程可以讓親水性物質包覆在雙乳化核殼奈米結構的水相核中。

實施例三：包覆親水性維他命 B12

依照第 2B 圖的雙乳化法，製備含有親水性維他命 B12 的雙乳化核殼奈米結構。在第一階段乳化步驟中，先製備

第一水溶液與有機溶液。上述之第一水溶液含有 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量為 10,000 – 25,000)及濃度為 0.001 g/ml 的維他命 B12。上述之有機溶液所用的溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒(粒徑約 5 nm)。取 0.2 ml 之第一水溶液與 0.5 ml 之有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，形成油包水的乳液。

接著，進行第二階段乳化步驟。製備第二水溶液，其含有 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量為 16,000)。讓前述之油包水乳液與 1.75 ml 之第二水溶液混合後，再次以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，形成水包油的乳液。待三氯甲烷於室溫下完全揮發後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，然後讓其重新分散於去離子水中。

第 9 圖為包覆親水性維他命 B12 的雙乳化核殼奈米結構在外加交流磁場下的控制釋放曲線圖。在第 9 圖中，分別於第 10 分鐘以及第 20 分鐘打開強度為 200 Oe 之交流磁場 1 分鐘，可以看到維他命 B12 有短暫的兩個濃度快速增加期。而在磁場關閉期間，僅有少量的維他命 B12 會被釋放出來。

實施例四：包覆親水性小紅莓(Doxorubicin; DOXO)

依照第 2A 圖的單乳化法，製備含有親水性小紅莓的雙乳化核殼奈米結構。先分別製備水溶液與有機溶液。上述水溶液含有濃度為 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量為

16,000、47,000 及 61,000)及濃度為 0.002 g/ml 的小紅莓。上述之有機溶液所用的溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒(粒徑約 5 nm)。

讓 0.2 ml 水溶液與 0.5 ml 有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，再讓三氯甲烷於室溫下完全揮發。最後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，再讓其重新分散於去離子水中。

最後製得之含有親水性小紅莓的雙乳化核殼奈米結構的相關數據列於下面表二中。在表二中，將雙乳化核殼奈米結構簡稱為載體，水相核簡稱為內核。由表二可知，聚乙烯醇的分子量越大時，親水性越差，而讓雙乳化核殼奈米結構內部的水相核體積越小，油相殼越厚。因此，導致親水性藥物小紅莓的包覆率與負載量也跟著減少。

表二：使用具有不同分子量的聚乙烯醇來製備含有親水性小紅莓的雙乳化核殼奈米結構

聚乙烯醇 分子量	內核直徑 (nm)	載體外徑 (nm)	Doxo 包覆率(%)	Doxo 負載量 (mg/g 載體)
16k	108	158	18	0.23
47k	47	144	9	0.12
61k	31	137	6	0.08

$$* \text{包覆率}(\%) = \text{Doxo 負載總量} / \text{Doxo 總量} \times 100\%$$

第 10 圖為含有親水性小紅莓的雙乳化核殼奈米結構

的小紅莓自然釋放曲線。由第 6 圖可知，當聚乙烯醇的分子量越大，油相殼越厚時，在水相核中之小紅莓要透過油相殼釋放至外界，使其自然釋放速率越慢。

實施例五：以單乳化法同時包覆小紅莓與紫杉醇

依照第 2A 圖的單乳化法，使用不同分子量的聚乙烯醇來分別製備同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構。先製備水溶液與有機溶液。水溶液中含有 0.02 g/ml 之聚乙烯醇(分子量分別為 16,000、47,000、61,000)及濃度為 0.002 g/ml 的小紅莓。有機溶液所用之溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.02 g/ml 的紫杉醇與濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒。

讓 0.2 ml 水溶液與 0.5 ml 有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，再讓三氯甲烷於室溫下完全揮發。最後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，再讓其重新分散於去離子水中。

第 11 圖為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的小紅莓與紫杉醇之自然釋放曲線圖，所使用之聚乙烯醇的分子量為 16,000。由第 11 圖可知，同時含有小紅莓與紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構之小紅莓釋放曲線與只含有小紅莓的雙乳化核殼奈米結構之小紅莓釋放曲線近似。同樣地，同時含有小紅莓與紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構之紫杉醇釋放曲線與只含有紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構之紫杉醇釋放曲線近似。由此可知，同時

含有親水性藥物與疏水性藥物，並不會明顯地影響雙乳化核殼奈米結構的藥物釋放行為。

第 12A-12B 圖分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的小紅莓與紫杉醇之控制釋放曲線圖。在第 12A-12B 圖中，外加交流磁場在 0 分鐘時打開，在第 600 分鐘時關閉(標示 MF-OFF 處)。由第 12A-12B 圖可知，組成油相殼之聚乙烯醇的分子量越大，小紅莓與紫杉醇之釋放速率越慢。但是與第 11 圖之自然釋放速率相較下，小紅莓與紫杉醇之控制釋放速率還是要快許多。

實施例六：以雙乳化法同時包覆小紅莓與紫杉醇

依照第 2B 圖的雙乳化法，製備同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構。在第一階段乳化步驟中，先製備第一水溶液與有機溶液。上述第一水溶液含有 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量為 16,000)及濃度為 0.002 g/ml 的小紅莓。上述之有機溶液所用的溶劑為三氯甲烷，有機溶液中含有濃度為 0.02 g/ml 的紫杉醇與濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒。讓 0.2 ml 的第一水溶液與 0.5 ml 的有機溶液混合在一起後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，形成第一乳液。

接著，進行第二階段乳化步驟。製備第二水溶液。第二水溶液含有 0.02 g/ml 的聚乙烯醇(分子量分別為 16,000、47,000、61,000)。讓前述之 0.7 ml 第一乳液與 1.75 ml 第二水溶液混合後，再次以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，形成第二乳液。待三氯甲烷於室溫下完全揮發

後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，然後讓其重新分散於去離子水中。

所得之雙乳化核殼奈米結構之相關數據列於下面表三中。從表三可知，在第二階段的乳化步驟中所使用的聚乙烯醇分子量越大，讓雙乳化核殼奈米結構內部的水相核體積越小，油相殼越厚。因此，導致親水性藥物小紅莓的包覆率與負載量也跟著減少。但是，與前面表二之單乳化法的結果相較下，雙乳化法可明顯地增加小紅莓的包覆率與負載量。

但是，在第二階段的乳化步驟中所使用的聚乙烯醇分子量大小，對於紫杉醇的包覆率與負載量並沒有太大影響。而且與前面表一之單乳化法的結果相較下，紫杉醇的包覆率與負載量也相差不大。

表三：在第二階段的乳化步驟中使用具有不同分子量的聚乙烯醇來製備同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構

聚乙烯醇分子量		內核直徑 (nm)	載體直徑 (nm)	包覆率(%)		承載量 (mg/g 載體)	
第一乳化	第二乳化			Doxo	PTX	Doxo	PTX
16k	16k	105	155	41	96	0.53	9.12
16k	47k	50	148	32	96	0.42	9.12
16k	61k	34	140	24	97	0.31	9.21

第 13A-13B 圖為分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的小紅莓與紫杉醇之自然

釋放曲線圖。從第 13A-13B 圖可知，隨著第二階段的乳化步驟中所使用的聚乙烯醇分子量增加，小紅莓與紫杉醇的自然釋放速率跟著減少，其因為油相殼的厚度增加之故。

第 14A-14B 圖為分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的小紅莓與紫杉醇之控制釋放曲線圖。從第 14A-14B 圖可知，外加交流磁場可以大幅增加小紅莓與紫杉醇的釋放速率。而且同樣地，隨著第二階段的乳化步驟中所使用的聚乙烯醇分子量增加，小紅莓與紫杉醇的釋放速率跟著減少。

實施例七：以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)

製備雙乳化核殼奈米結構

依照第 2A 圖的單乳化法，以聚乙烯吡咯烷酮製備雙乳化核殼奈米結構。先製備濃度為 0.8 g/ml 的聚乙烯吡咯烷酮水溶液，其分子量為 800,000。再製備含有濃度為 0.02 g/ml 之 IO-OA 奈米微粒的有機溶液，所用之有機溶劑為三氯甲烷。

讓上述之 1 ml 水溶液與 0.4 ml 有機溶液混合後，以 20 kHz 超音波讓混合溶液完全乳化，再讓三氯甲烷於室溫下完全揮發。最後，再以去離子水清洗及使用 8500 rpm 的離心轉速分離出雙乳化核殼奈米結構的產物，再讓其重新分散於去離子水中。

第 15A-15B 圖分別為所得之雙乳化核殼奈米結構的掃描式電子顯微鏡影像與穿透式電子顯微鏡影像。與實施例一類似，由於第 15A 圖之雙乳化核殼奈米結構經過真空乾

燥處理，而且聚乙烯吡咯烷酮的分子鏈為軟鏈，因此其油相殼呈現碗狀或向內塌陷的情況。而在第 15B 圖中，可以看到雙乳化核殼奈米結構為一中空球體結構，並可看到 IO-OA 奈米微粒(顏色較深者)分散於油性殼中。

實施例八：細胞相容性測試

因為上述之各種雙乳化核殼奈米結構可做為一種奈米藥物載體，而能增加藥物的運輸效率和吸收率，以減少藥物的整體使用量。因此以一些官能基(例如羧基、醛基、胺基、羥基、醯胺基或磺酸基)來修飾上述雙乳化核殼奈米結構的表面，讓其可與各種細胞上之各種抗體或胜肽(peptide)分子連結，而被特定細胞吞噬進去，以發揮標靶藥物的作用。

細胞相容性測試的方法如下所述。先製備有表面修飾與沒有表面修飾之雙乳化核殼奈米結構，讓雙乳化核殼奈米結構含有紅光量子點。然後讓有表面修飾與沒有表面修飾之雙乳化核殼奈米結構分別與乳癌細胞 MCF-7 接觸一段時間後，再以螢光顯微鏡觀測之。上述表面修飾的官能基為羧基(-COOH)。

第 16A-16B 圖分別為表面修飾前與表面修飾後雙乳化核殼奈米結構之細胞相容性測試的結果圖。在第 16A-16B 圖中，紅色的部分為紅光量子點所在處，藍色的部分為細胞核所在處，綠色的部分為細胞質所在處。在第 16A 圖中，由於雙乳化核殼奈米結構沒有進行表面修飾，因此不容易被乳癌細胞 MCF-7 所吞噬。但是在第 16B 圖中，由於雙乳

化核殼奈米結構的表面具有羧基，因此可輕易地被乳癌細胞 MCF-7 所吞噬。

由上述揭露內容可知，可以使用不同分子量的水溶性高分子，以單乳化法或雙乳化法來簡單製備具有水相核與油相殼結構的雙乳化核殼奈米結構。所得之雙乳化核殼奈米結構可以用來包覆親水性與疏水性藥物，做為藥物載體。若讓雙乳化核殼奈米結構進行適當的表面修飾後，還可以做為標靶藥物治療的載體。而且可利用順磁奈米粒子以及外加交流磁場來進行局部加熱，以利藥物的控制釋放。

雖然本發明已以實施方式揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

第 1A 圖是繪示依照本發明一態樣的一種雙乳化核殼奈米結構剖面結構示意圖。

第 1B 圖係繪示利用雙乳化核殼奈米結構來同時做為親水性藥物以及疏水性藥物載體的剖面結構示意圖。

第 2A 圖係繪示單乳化法的流程示意圖。

第 2B 圖係繪示雙乳化法的流程示意圖。

第 3A-3B 圖分別為所得之雙乳化核殼奈米結構的掃描式電子顯微鏡影像與穿透式電子顯微鏡影像。

第 4A-4D 圖為利用動態光散射儀器分析雙乳化核殼奈

米結構所得之粒徑分佈結果。

第 5 圖為利用超導量子干涉儀來分析 IO-OA 奈米粒子本身以及所得之雙乳化核殼奈米結構之結果。

第 6 圖為利用核磁共振影像分析所得之雙乳化核殼奈米結構之 T_1 及 T_2 。

第 7A-7B 圖為含有疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構的紫杉醇自然釋放曲線與控制釋放曲線圖。

第 8 圖為含有親水性奈米金棒的雙乳化核殼奈米結構的穿透式電子顯微鏡影像。

第 9 圖為包覆親水性維他命 B12 的雙乳化核殼奈米結構在外加交流磁場下的控制釋放曲線圖。

第 10 圖為含有親水性小紅莓的雙乳化核殼奈米結構的小紅莓自然釋放曲線。

第 11 圖為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構(單乳化法)的小紅莓與紫杉醇之自然釋放曲線圖。

第 12A-12B 圖分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構(單乳化法)的小紅莓與紫杉醇之控制釋放曲線圖。

第 13A-13B 圖為分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構(雙乳化法)的小紅莓與紫杉醇之自然釋放曲線圖。

第 14A-14B 圖為分別為同時含有親水性小紅莓與疏水性紫杉醇的雙乳化核殼奈米結構(雙乳化法)的小紅莓與紫杉醇之控制釋放曲線圖。

第 15A-15B 圖分別為所得之雙乳化核殼奈米結構的掃

描式電子顯微鏡影像與穿透式電子顯微鏡影像。

第 16A-16B 圖分別為表面修飾前與表面修飾後雙乳化核殼奈米結構之細胞相容性測試的結果圖。

【主要元件符號說明】

100：雙乳化核殼奈米結構

110：油相殼

115：水溶性高分子

120：疏水性順磁奈米粒子

125：水相核

130：親水性藥物

135：疏水性藥物

210a、210b、212a、212b、214a、214b：步驟

220、222、224：步驟

230、232a、232b、234a、234b、234c：步驟

242、244：步驟

252、254：步驟

260、262、264：步驟

270、272、274：步驟

七、申請專利範圍：

公告本

103年9月10日修正

P24-27

1. 一種雙乳化核殼奈米結構，其包含：
 - 一水相核；以及
 - 一油相殼，包圍該水相核，該油相殼的組成包含聚乙烯醇與複數個疏水性順磁奈米粒子，但不包含其他界面活性劑或其他高分子。
2. 如請求項 1 所述之雙乳化核殼奈米結構，其中該聚乙烯醇的分子量為 3,000 - 61,000 Da。
3. 如請求項 1 所述之雙乳化核殼奈米結構，其中該些疏水性順磁奈米粒子為表面有疏水性官能基修飾之 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 CoFe_2O_4 或 MnFe_2O_4 微粒。
4. 如請求項 1 所述之雙乳化核殼奈米結構，其中該油相殼包含一疏水性藥物。
5. 如請求項 1 所述之雙乳化核殼奈米結構，其中該水相核包含一親水性藥物。
6. 一種雙乳化核殼奈米結構的單乳化製備方法，該製備方法包含：
 - 製備一水溶液，其包含聚乙烯醇，但不包含其他界面活性劑或其他高分子；

製備一有機溶液，其包含複數個疏水性順磁奈米粒子；以及

混合攪拌該水溶液與該有機溶液，以形成一乳液，並於該乳液中形成複數個雙乳化核殼奈米結構，

其中每一該些雙乳化核殼奈米結構包含一水相核與包圍該水相核之一油相殼，該油相殼包含該水溶性高分子與該些疏水性順磁奈米粒子。

7. 如請求項 6 所述之單乳化製備方法，更包含加入一疏水性藥物至該有機溶液中。

8. 如請求項 6 所述之單乳化製備方法，更包含加入一親水性藥物至該水溶液中。

9. 如請求項 6 所述之單乳化製備方法，其中該乙烯醇的分子量為 3,000 – 61,000。

10. 如請求項 6 所述之單乳化製備方法，更包含去除該乳液中之有機溶劑。

11. 一種雙乳化核殼奈米結構的雙乳化製備方法，該製備方法包含：

製備一第一水溶液，其包含一親水性藥物與一第一聚乙烯醇，但不包含其他界面活性劑或其他高分子；

製備一有機溶液，其包含有複數個疏水性順磁奈米粒

子；

混合攪拌該第一水溶液與該有機溶液，以形成一油包水乳液；

製備一第二水溶液，其包含一第二聚乙炔醇，但不包含其他界面活性劑或其他高分子；以及

混合攪拌該油包水乳液與該第二水溶液，以形成一水包油乳液，並於該水包油乳液中形成複數個雙乳化核殼奈米結構，

其中每一該些雙乳化核殼奈米結構包含一水相核與包圍該水相核之一油相殼，該水相核包含該親水性藥物，該油相殼包含該第一與第二水溶性高分子與該些疏水性順磁奈米粒子。

12. 如請求項 11 所述之雙乳化製備方法，更包含加入一疏水性藥物至該有機溶液中。

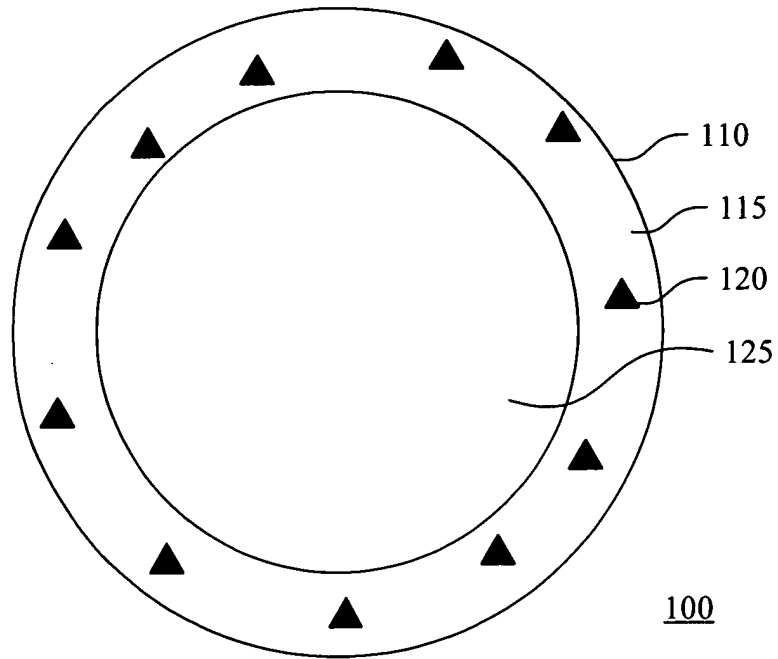
13. 如請求項 11 所述之雙乳化製備方法，其中該第一聚乙炔醇與該第二聚乙炔醇的分子量不同。

14. 如請求項 11 所述之雙乳化製備方法，更包含去除該水包油乳液中之有機溶劑。

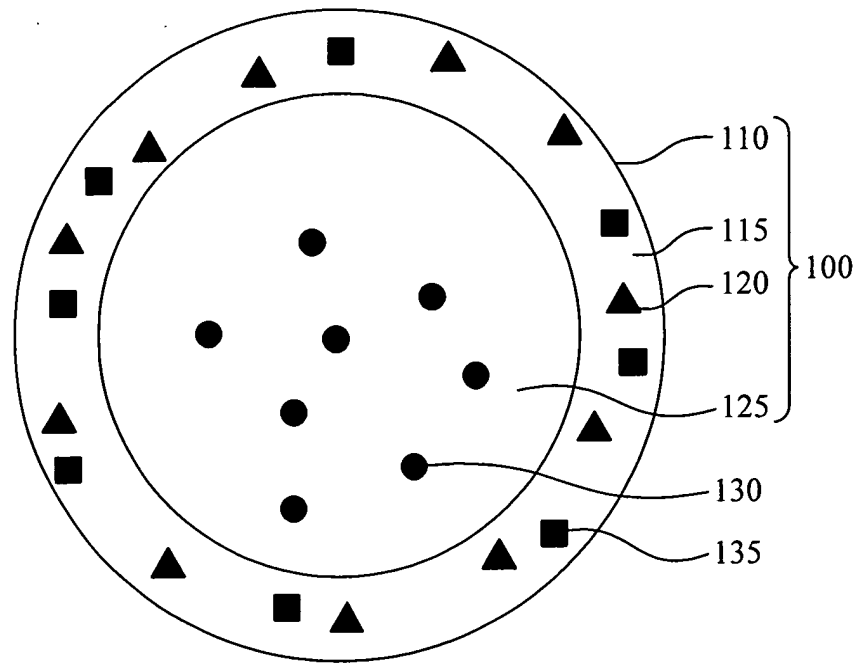
15. 如請求項 11 所述之雙乳化製備方法，其中該第一聚乙炔醇與第二聚乙炔醇的分子量為 3,000 – 61,000 Da。

16. 如請求項 6 或 11 所述之製備方法，其中該疏水性

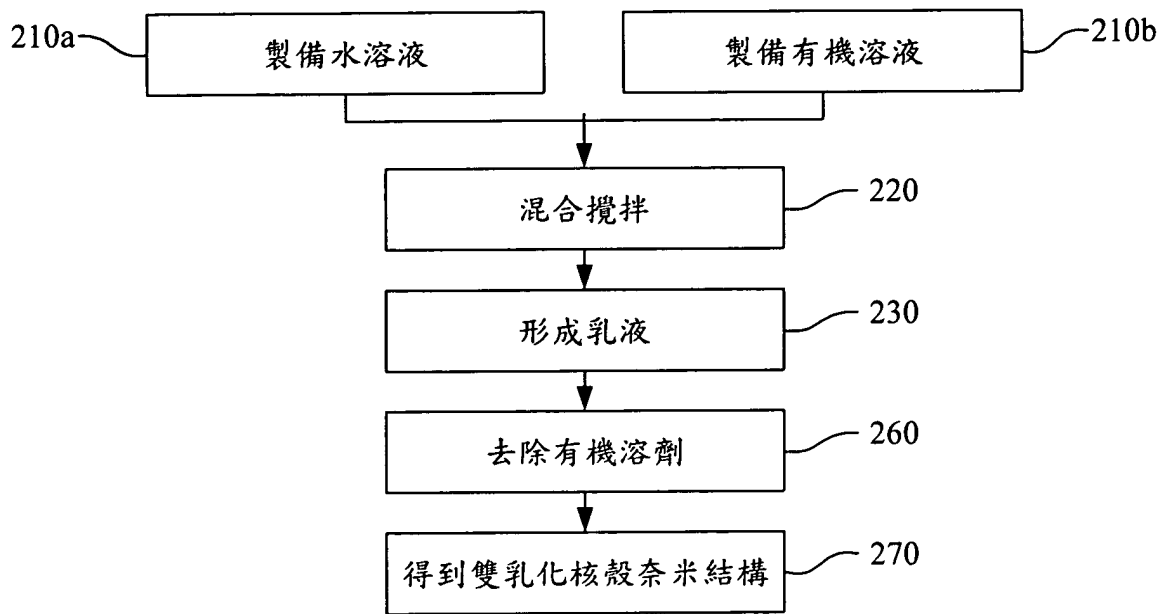
順磁奈米粒子為表面有疏水性官能基修飾之 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 CoFe_2O_4 或 MnFe_2O_4 微粒。



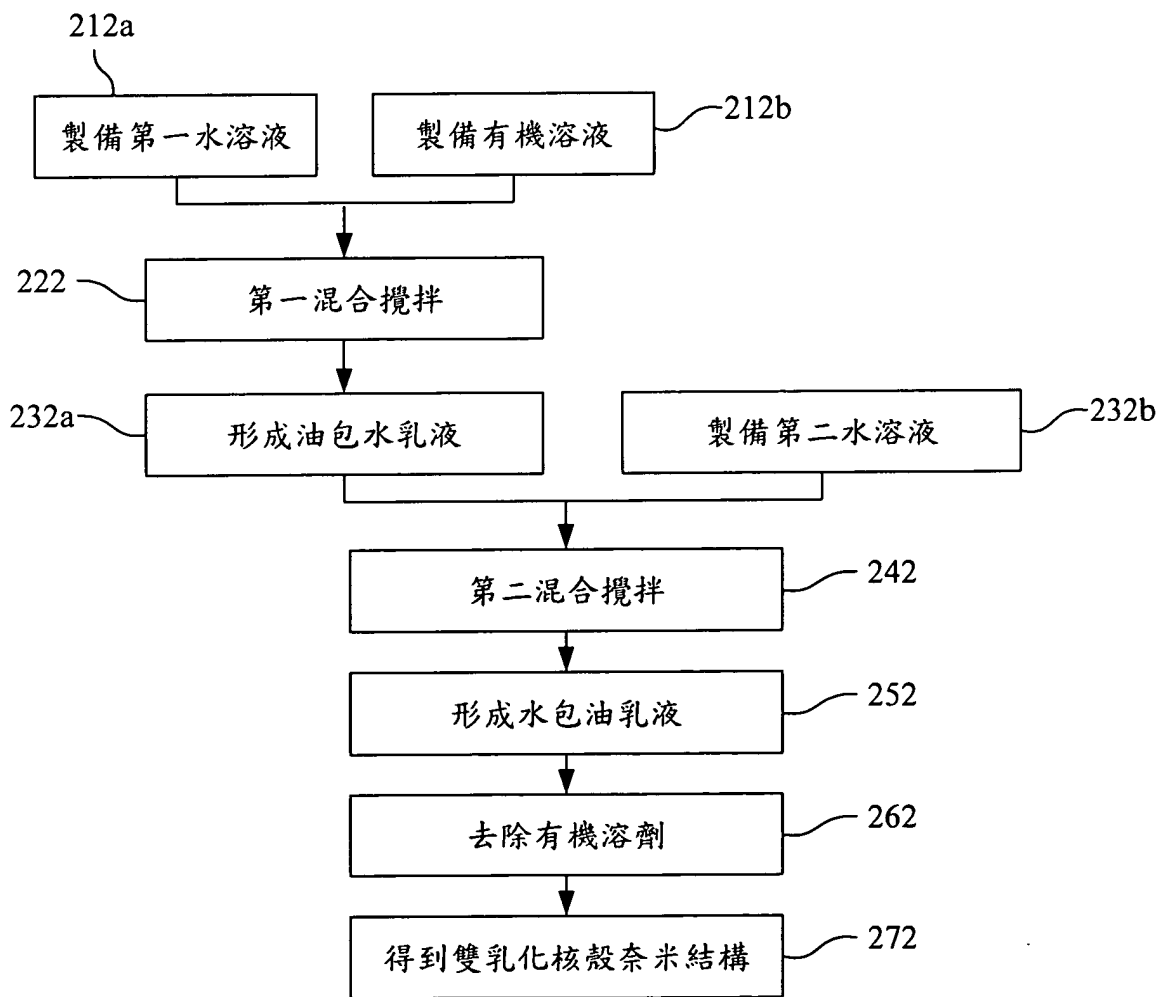
第 1A 圖



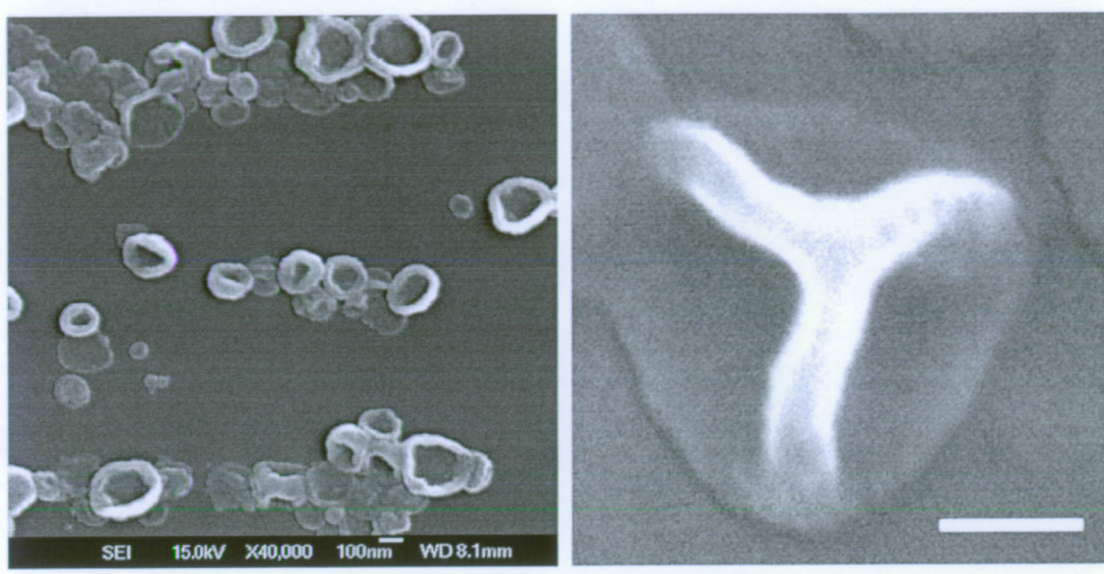
第 1B 圖



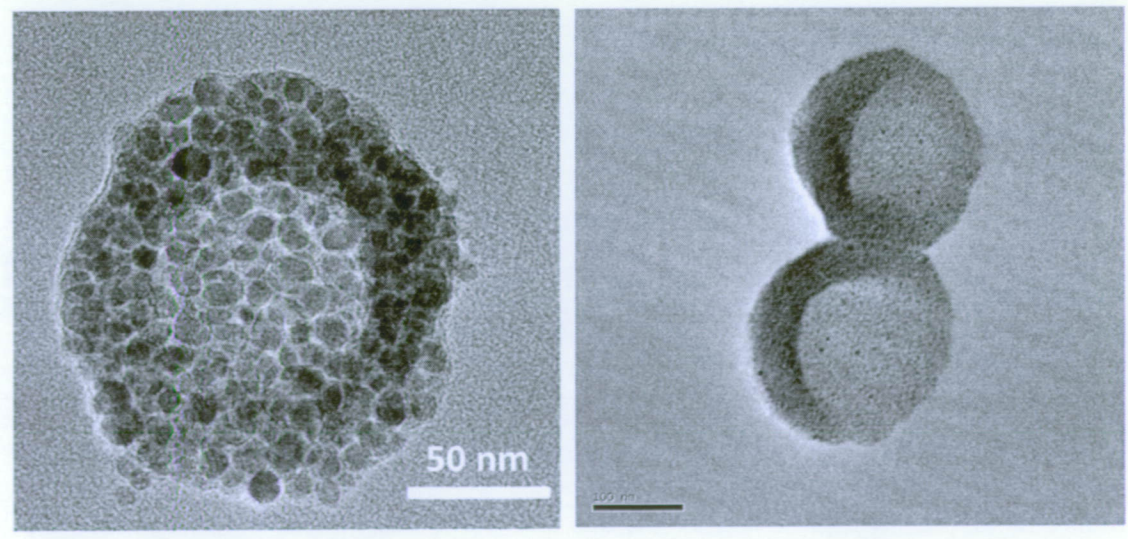
第 2A 圖



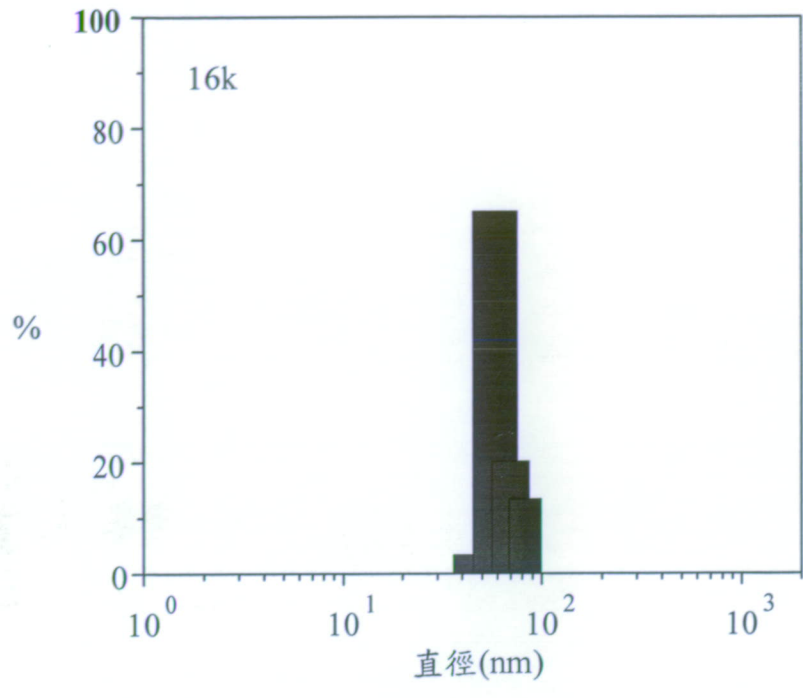
第 2B 圖



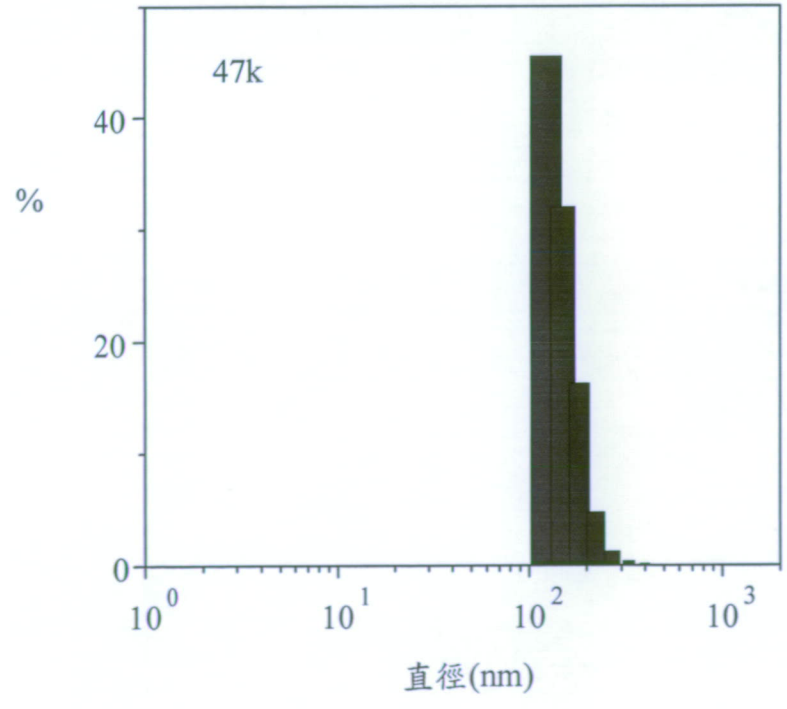
第 3A 圖



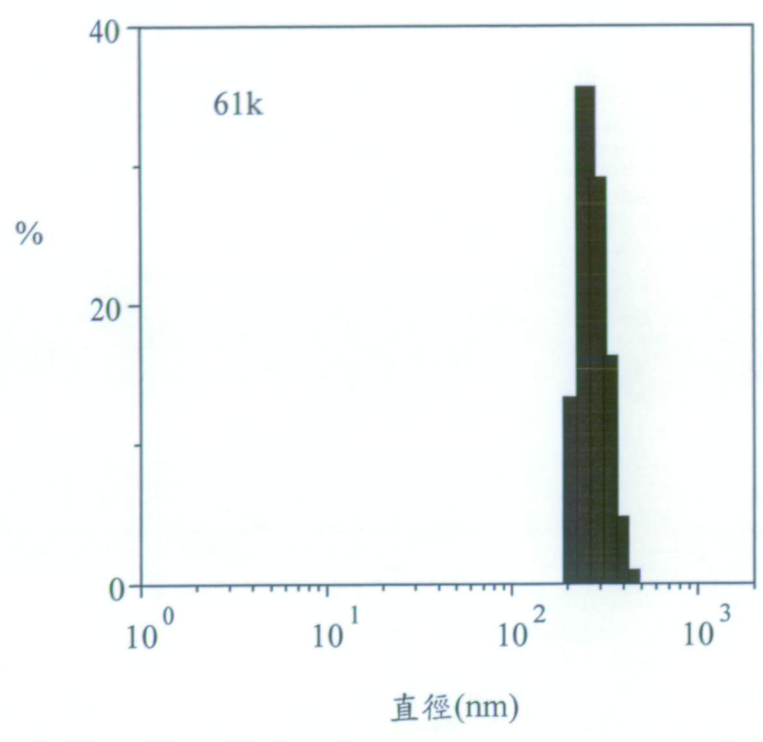
第 3B 圖



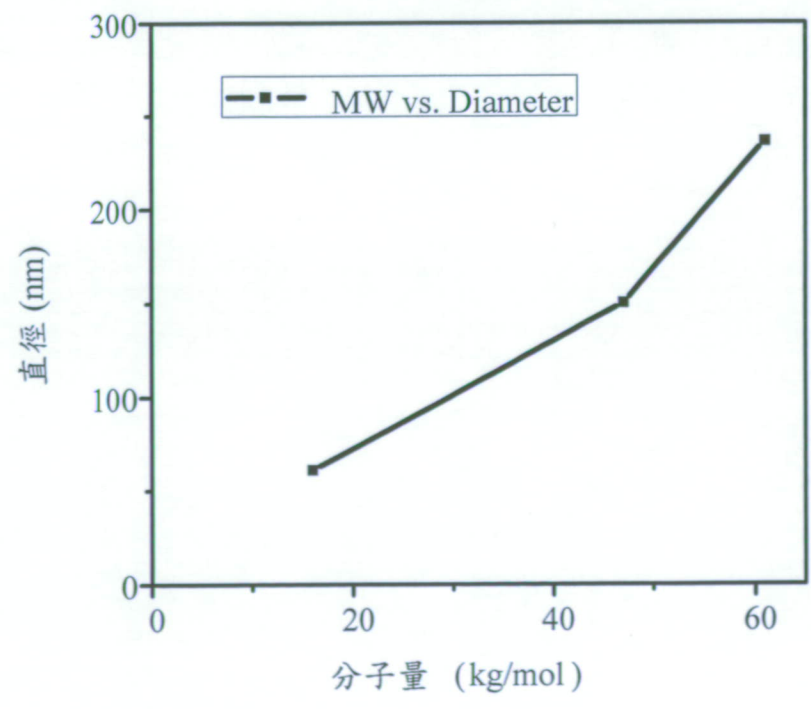
第 4A 圖



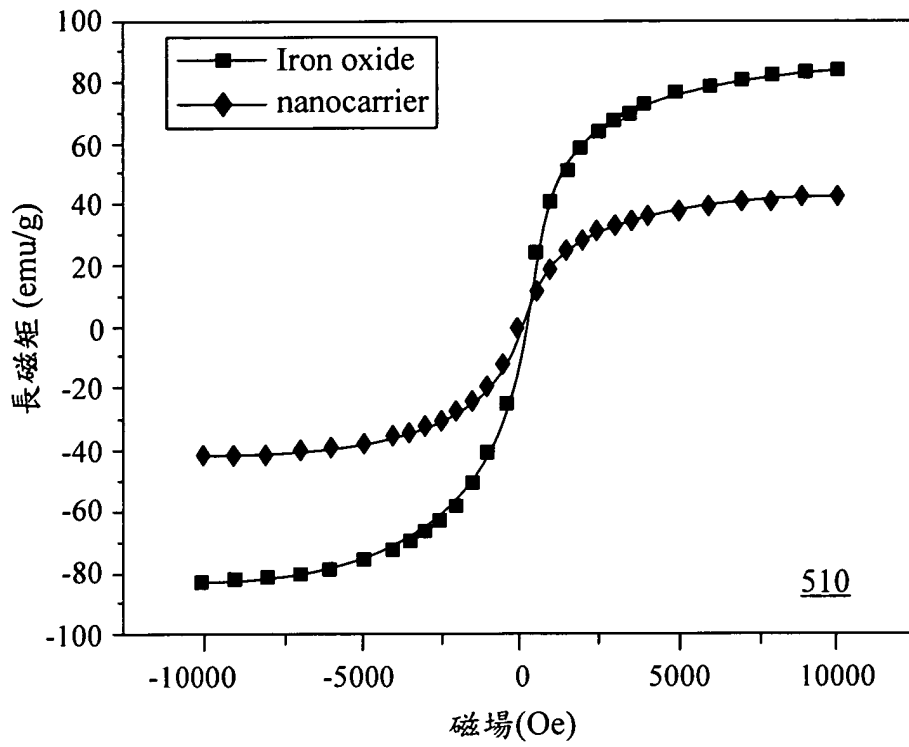
第 4B 圖



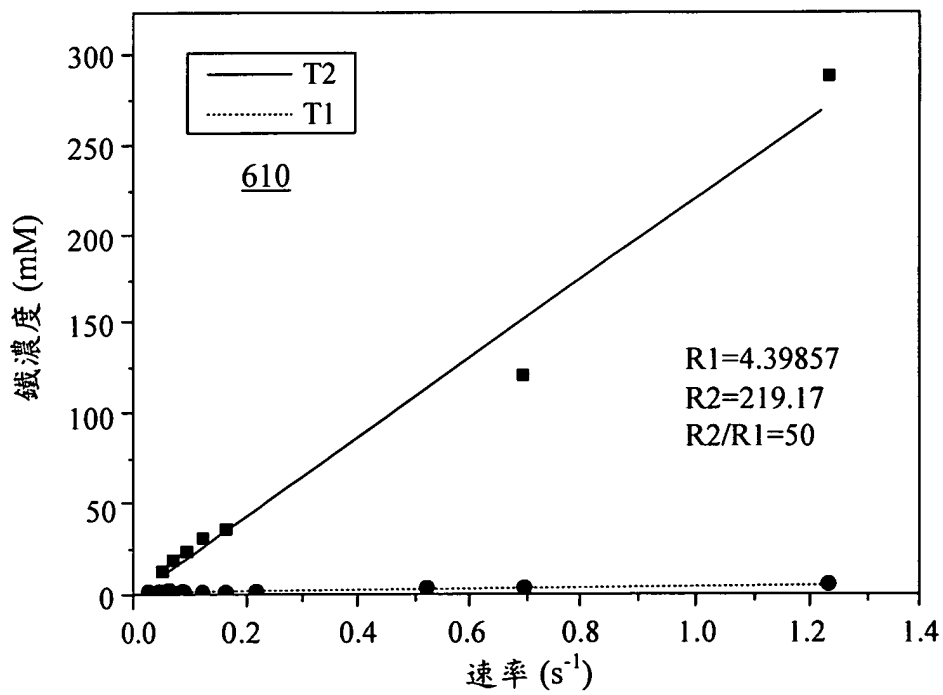
第 4C 圖



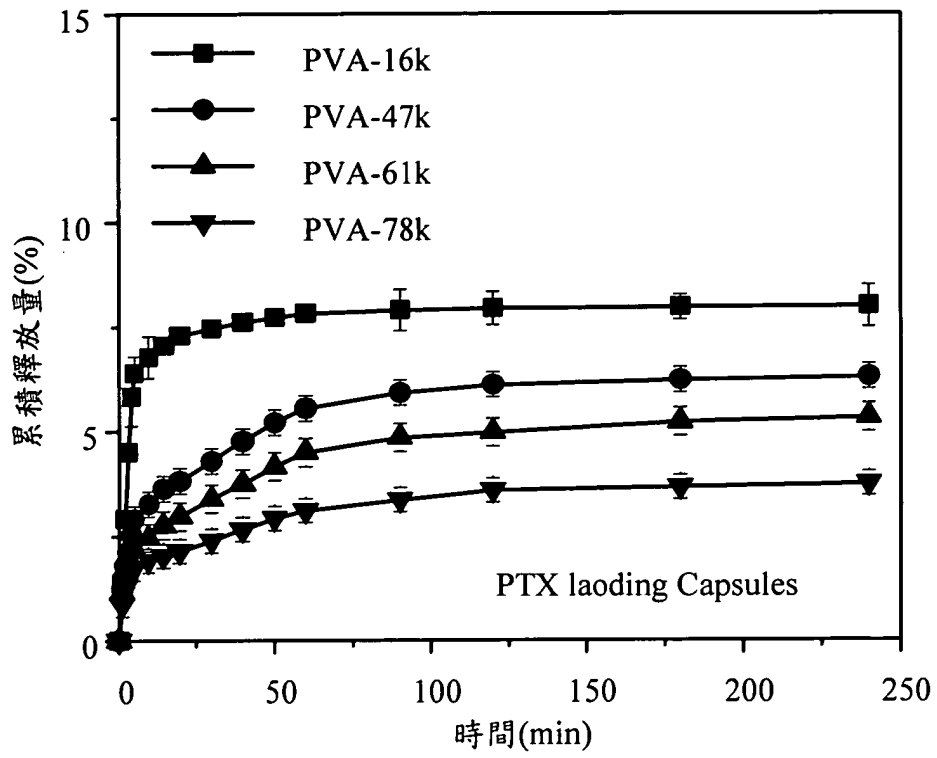
第 4D 圖



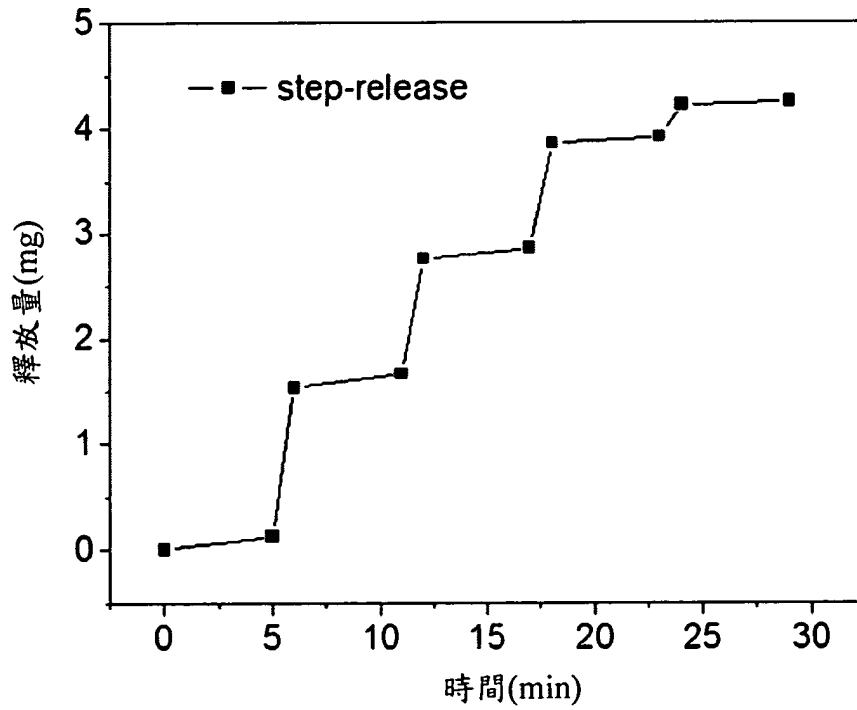
第 5 圖



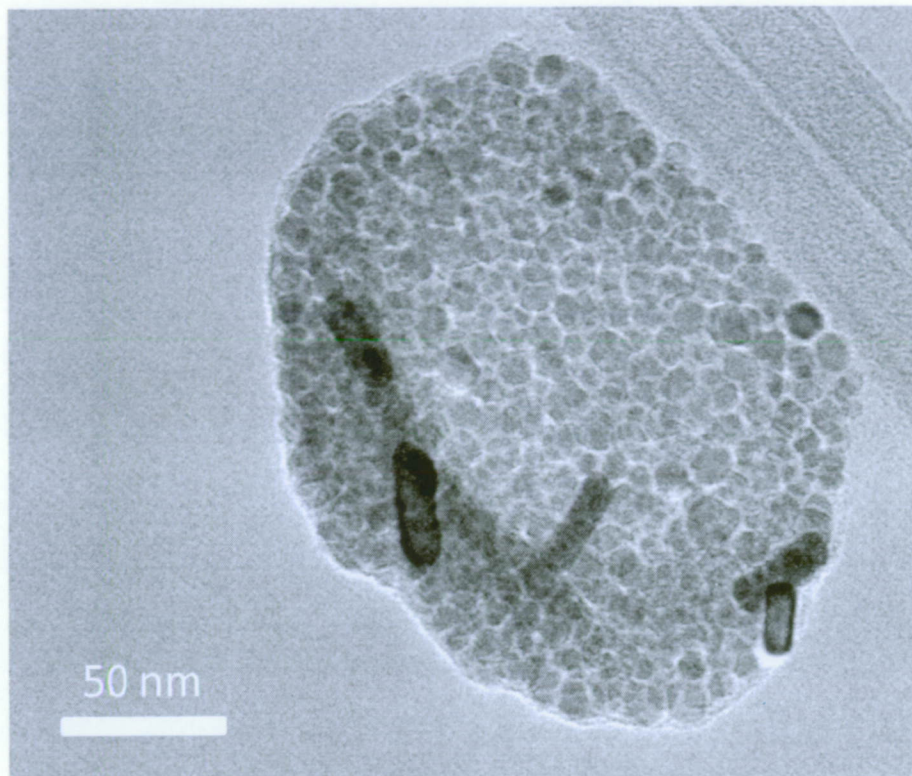
第 6 圖



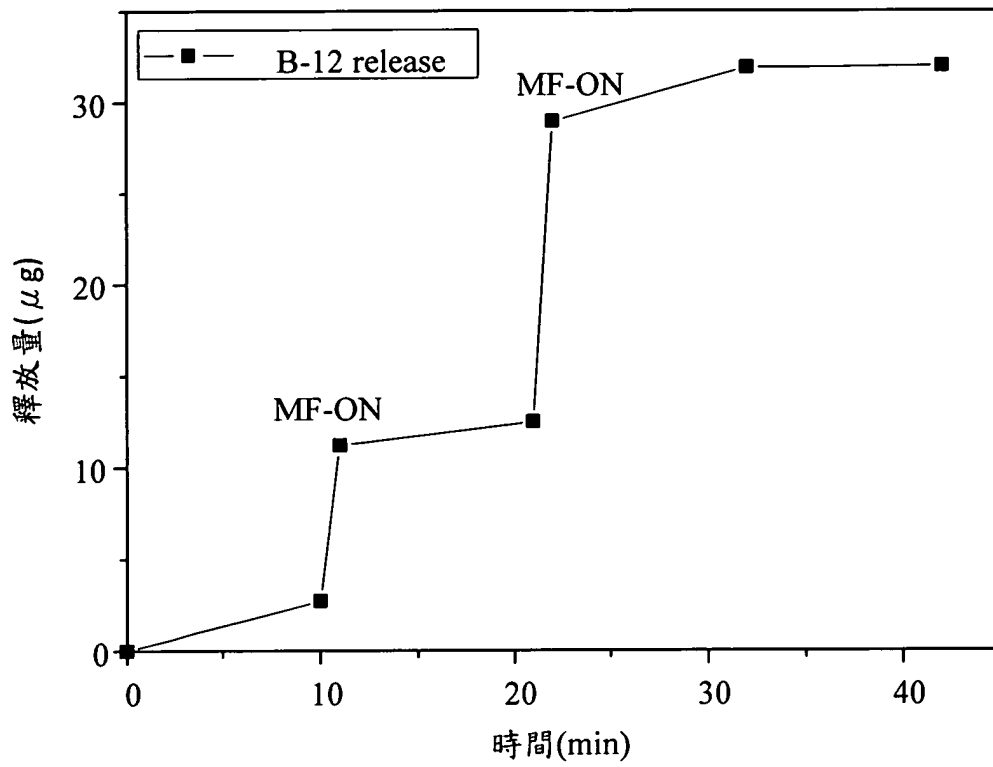
第 7A 圖



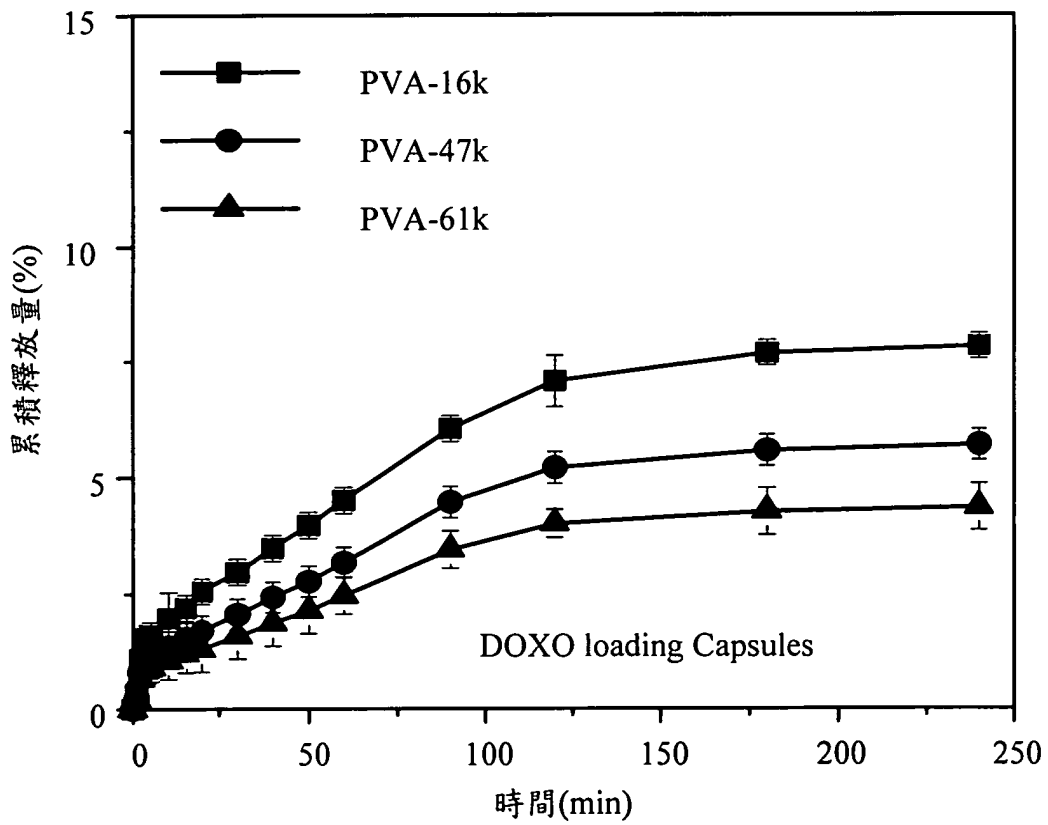
第 7B 圖



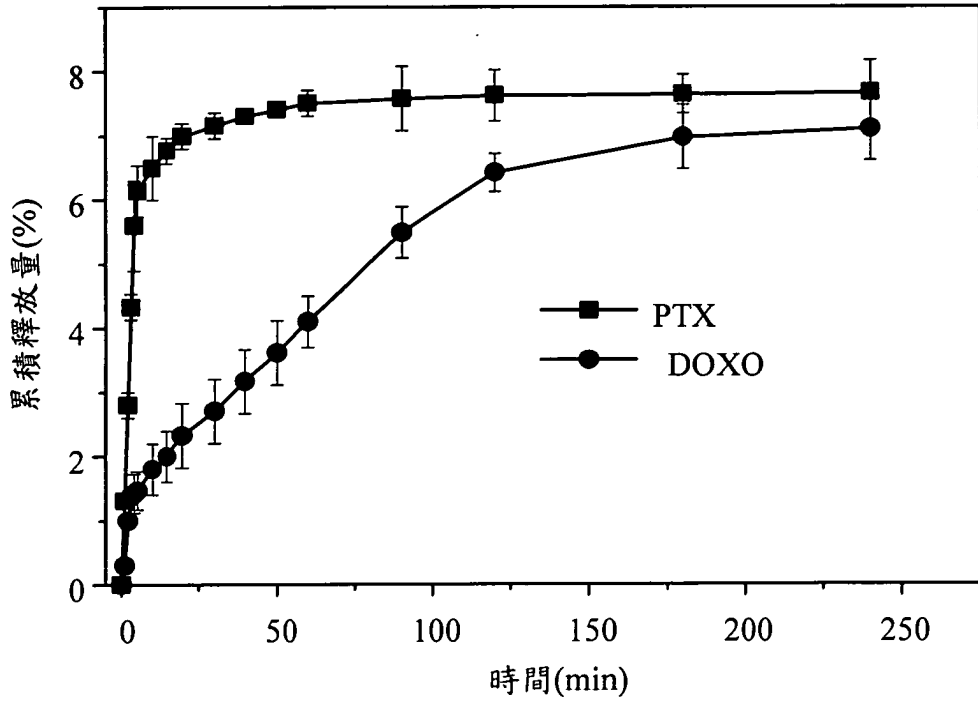
第 8 圖



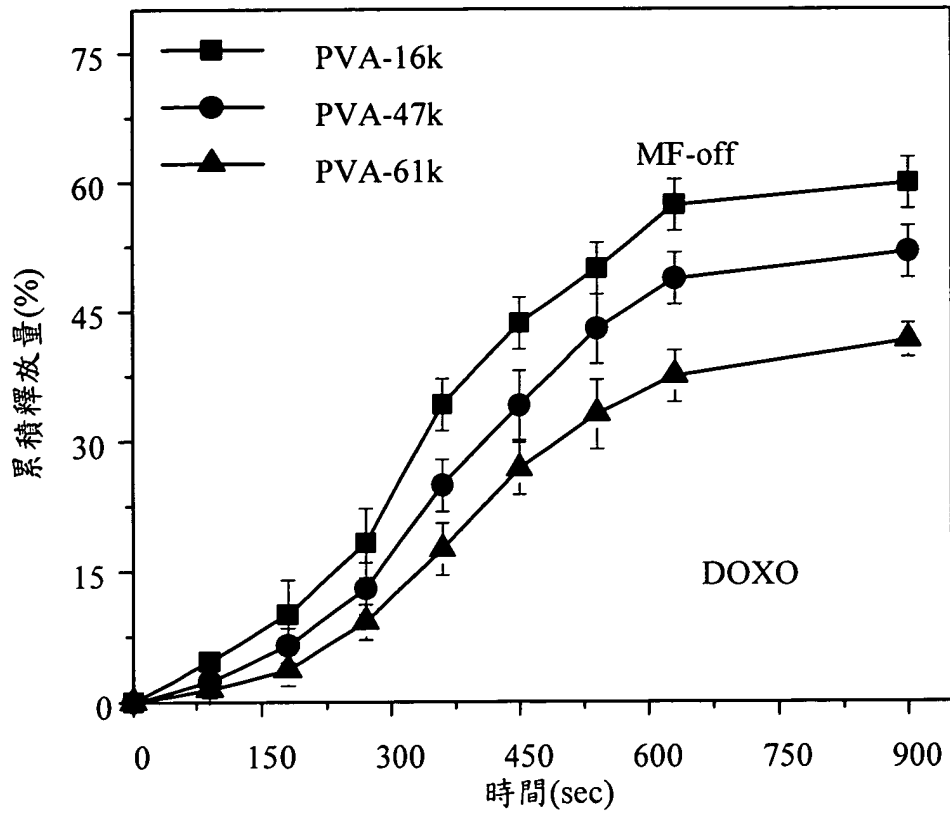
第 9 圖



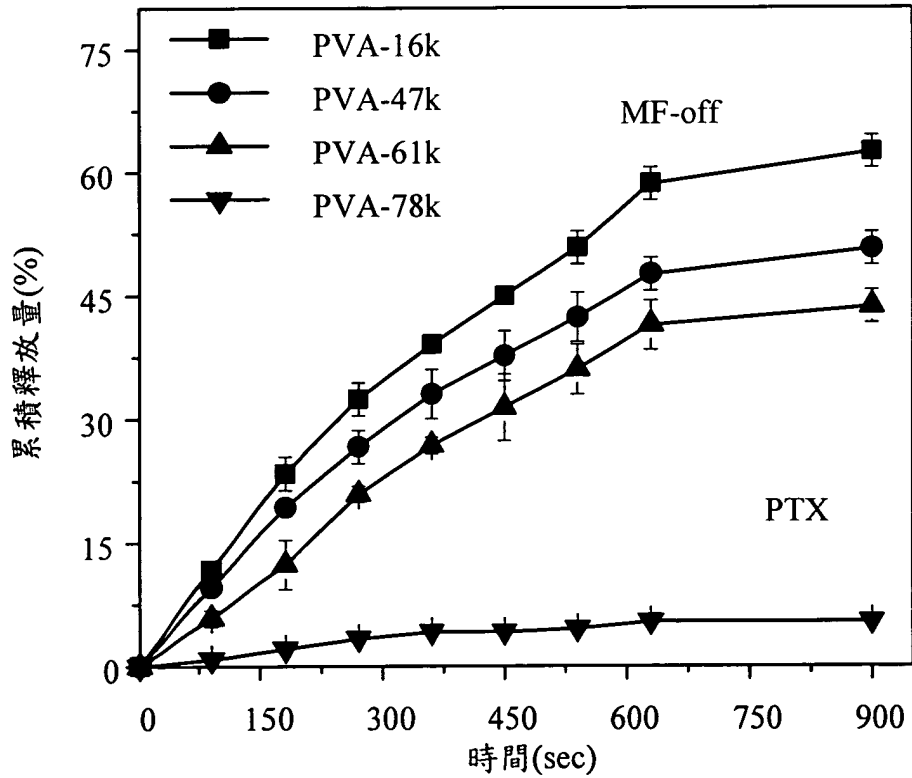
第 10 圖



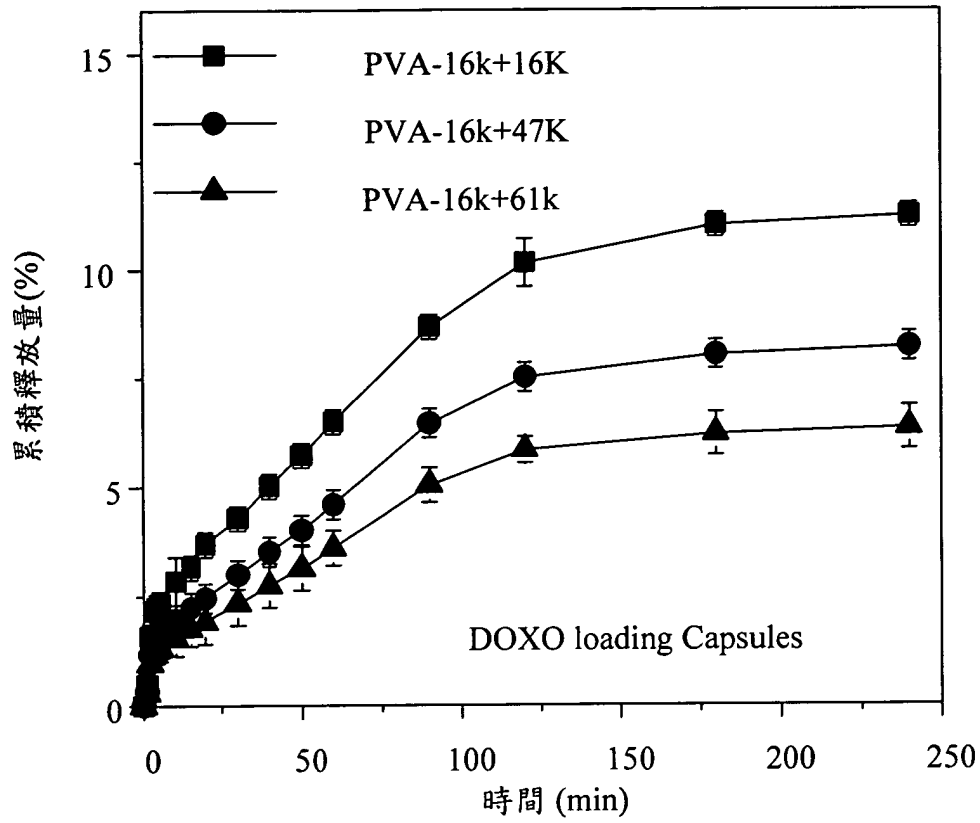
第 11 圖



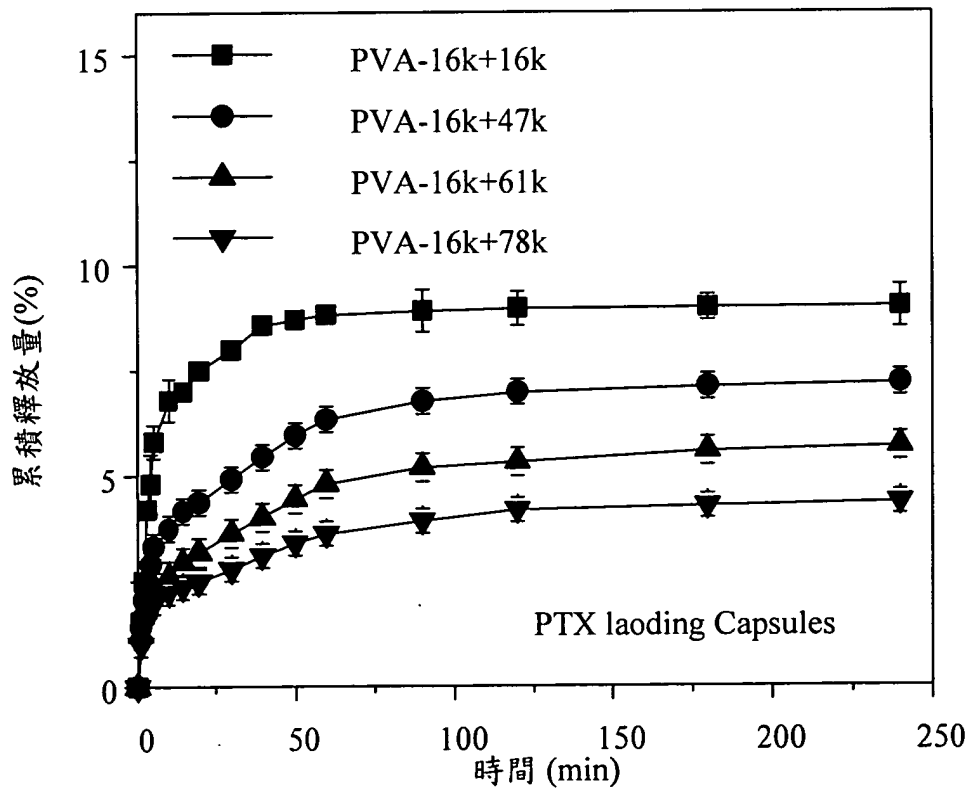
第 12A 圖



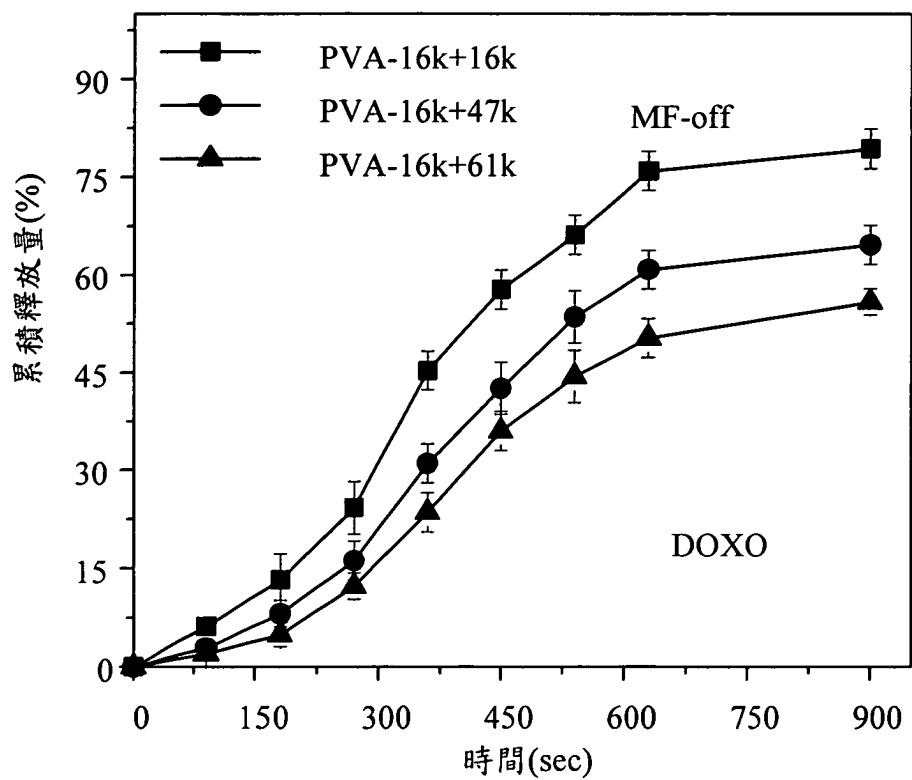
第 12B 圖



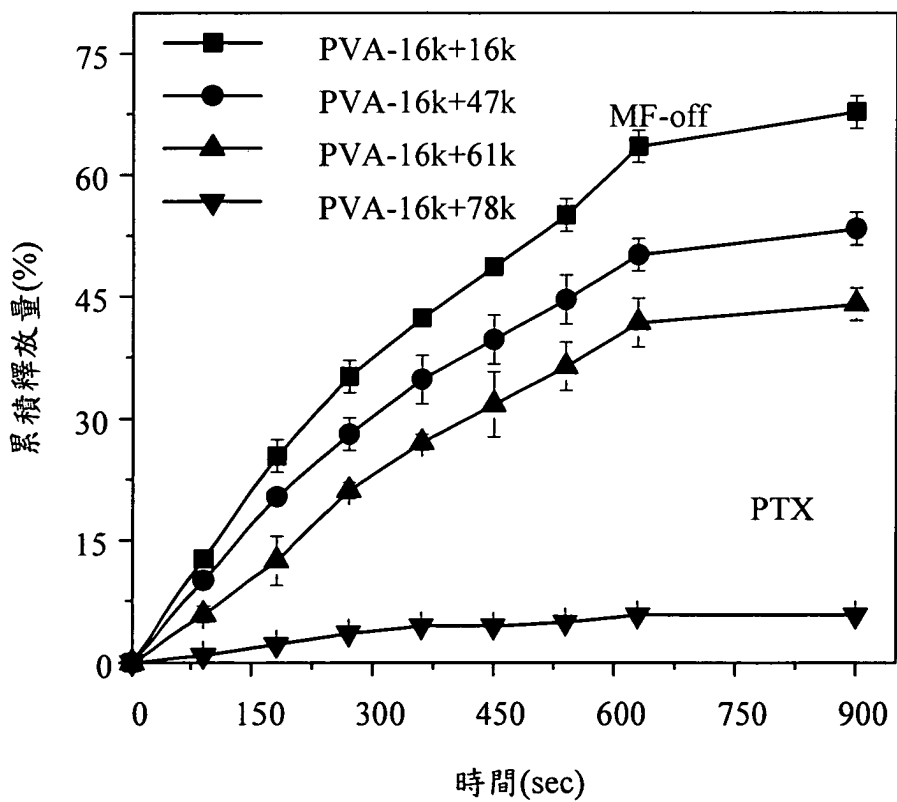
第 13A 圖



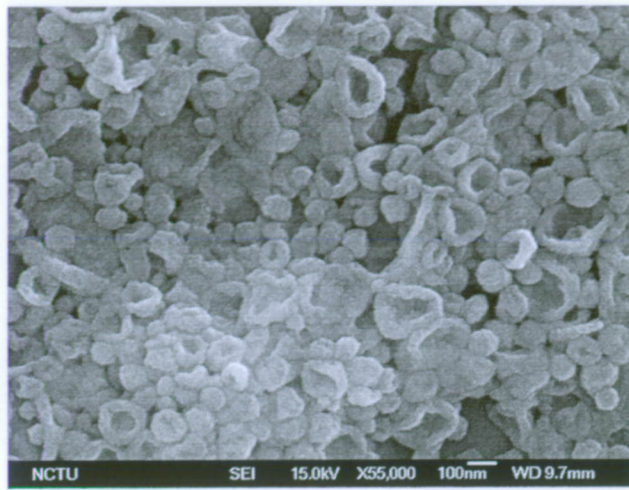
第 13B 圖



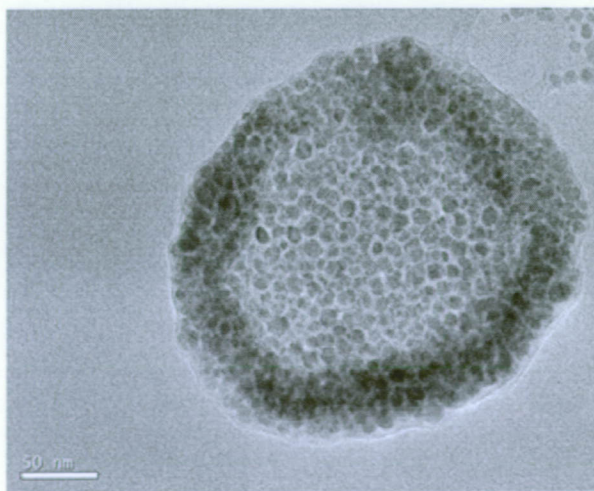
第 14A 圖



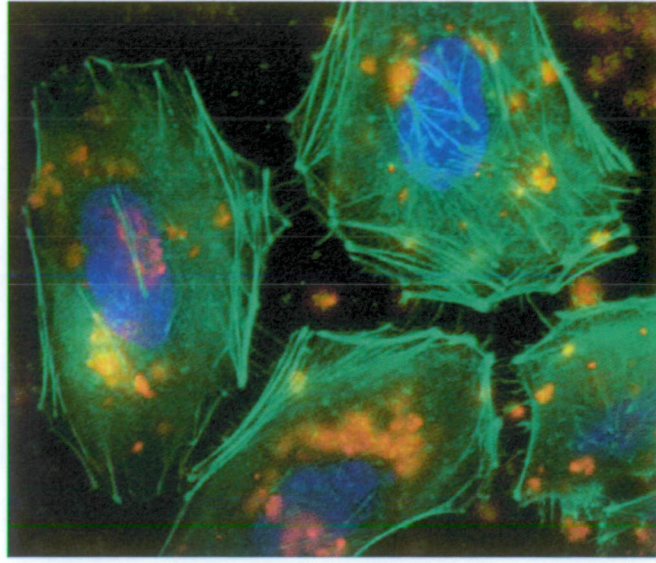
第 14B 圖



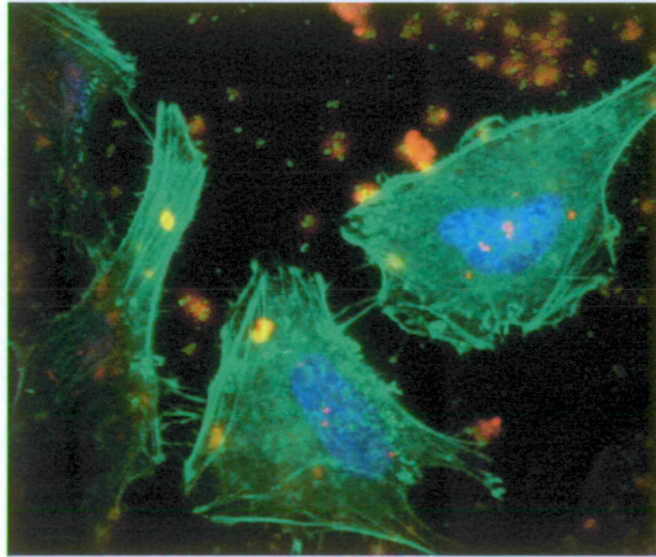
第 15A 圖



第 15B 圖



第 16A 圖



第 16B 圖