(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201103563 A1
(43)公開日： 中華民國 100 (2011) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：098124323 (22)申請日： 中華民國 98 (2009) 年 07 月 17 日
(51)Int. Cl.： *A61K49/18 (2006.01)* *A61K49/06 (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：陳三元 CHEN, SAN YUAN (TW)；胡尚秀 HU, SHANG HSIU (TW)；劉典謨 LIU, DEAN MO (TW)；郭冠廷 KUO, KUNTING (TW)
(74)代理人：蔡坤財；李世章
申請實體審查：有 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：15 共 56 頁

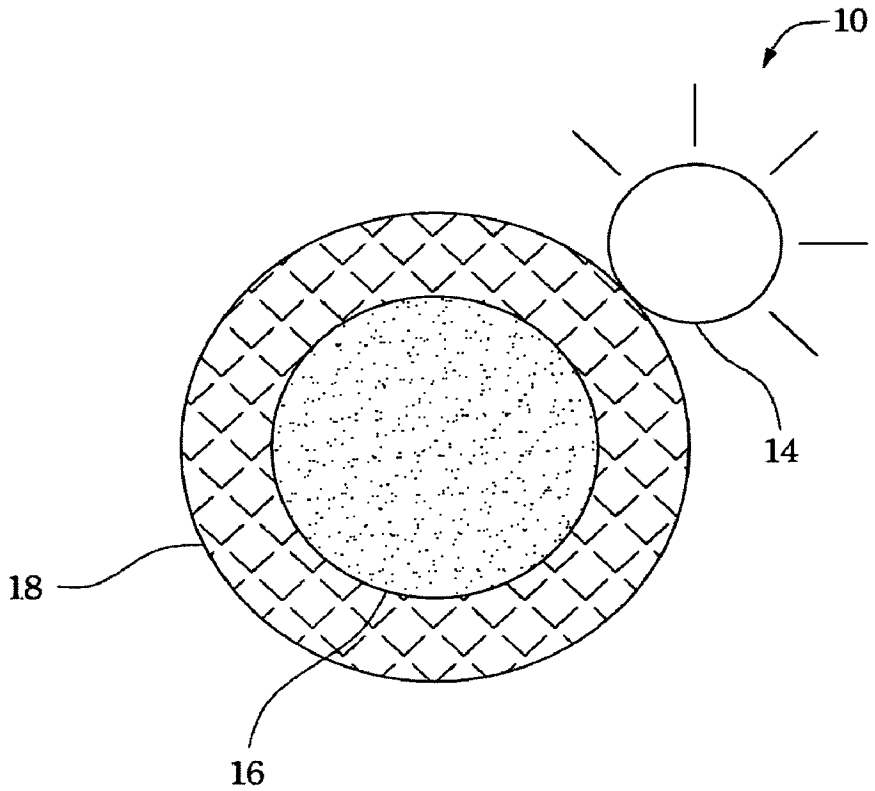
(54)名稱

奈米級之藥物傳送裝置、製備方法及用途

DRUG DELIVERY NANODEVICE, ITS PREPARATION METHOD AND USES THEREOF

(57)摘要

在此揭示活體內監控及釋放藥物的奈米裝置與方法。所揭示的奈米裝置特徵在於具有一裝載有藥物的奈米球，可透過磁性刺激而將其中的藥物釋出。也可將此奈米裝置當作一種顯影劑，於活體內造影並監控所釋出藥物或是單獨注入活體標的位置處之藥物的濃度與分佈情形。



10：奈米級藥物傳送裝置
14：量子點
16：核心
18：外殼

201103563

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；惟已有申請案號者請填寫）

※ 申請案號：098124323

※ 申請日期：2009 年 7 月 17 日　　※IPC 分類：A61K 49/18 (2006.0

A61K 49/06 (2006.01

一、發明名稱：（中文/英文）

奈米級之藥物傳送裝置、製備方法及用途

DRUG DELIVERY NANODEVICE, ITS PREPARATION METHOD AND USES THEREOF

二、中文發明摘要：

在此揭示活體內監控及釋放藥物的奈米裝置與方法。所揭示的奈米裝置特徵在於具有一裝載有藥物的奈米球，可透過磁性刺激而將其中的藥物釋出。也可將此奈米裝置當作一種顯影劑，於活體內造影並監控所釋出藥物或是單獨注入活體標的位置處之藥物的濃度與分佈情形。

三、英文發明摘要：

Nanodevice and method for *in vivo* monitoring and release of drugs are provided. The disclosed nanodevice is characterized in having a drug-loaded nanosphere that is capable of releasing the encapsulated drugs upon magnetically stimulation. The nanodevice may also be used as a contrast agent for *in vivo* imaging and monitoring the concentration and distribution of the released drugs and/or active compounds injected separately into a target site of a subject.

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:

10	奈米級藥物傳送裝置	14	量子點
16	核心	18	外殼

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關於一種奈米級藥物傳送裝置，其製備方法與用途。

【先前技術】

傳送藥物到病患個體體內的途徑有許多種，包括口服、經鼻吸入、經皮膜擴散、皮下注射及肌肉注射、非經腸胃道方式和植入等。口服一直是最常見的方式。但是，目前的口服藥物，包括膠囊及藥錠都還有一些缺點，例如，藥效不彰、不具控制釋放效果致使藥物太快被吸收或是吸收不完全、腸胃道不適等其他副作用。此外，這些藥物可能無法提供局部治療效果，和/或無法即時監控藥物的釋出情形。因此，亟需一種改良的藥物傳送系統和/或裝置，以便能更有效地傳送藥物至患者體內，降低副作用，同時容許在活體內追蹤患者體內標的位置處之藥物釋出情形。

目前已有多種影像技術可在活體內追蹤金屬性奈米顆粒，例如，奈米金顆粒等。這些影像技術所產生的影像，可反應出個體身體內組織與結構密度上的差異。最常使用的影像技術包括 X-光攝影、電腦斷層(computed tomography, CT)和核磁共振造影(magnetic resonance imaging, MRI)。

本發明設計、製造及採用一種新穎的奈米裝置作為藥物的傳送載體，可透過刺激個體身體之一特定部位，而能

主動地、由遠端將藥物釋出，同時並可利用如上述習知造影技術而於活體內追蹤藥物的釋出情形，包括其濃度與分佈。

【發明內容】

本揭示內容是有關於一種奈米級藥物傳送裝置，其之製造方法與用途。此奈米級藥物傳送裝置包括一種特徵為殼-核結構的奈米球(nanosphere)。此奈米球的核相中可以包埋有藥物或是生物活性物質，而外殼則是由磁性材料所製成，並進一步在殼層的表面上鍵結量子點 (quantum dot) ，而構成所謂奈米裝置(nanodevice)。當施加特定磁場到此奈米裝置的獨特結構上，透過磁性刺激上述磁性外殼來誘使磁性外殼產生變形，同時量子點產生光學變化，使得包埋在核相中的藥物或是生物活性物質，能夠根據所施加磁場的強度與時間長短，以控制釋出的形式被釋放至受測個體的特定身體部位。此外，也可利用其它適當的造影技術，例如，X-光攝影、電腦斷層和核磁共振造影，在有或無外加顯影劑的情況下，於活體內追蹤本揭示內容之奈米級藥物傳送裝置。

本揭示內容第一態樣是提供一種製造奈米級藥物傳送裝置的方法。此方法包括以下步驟：(a) 提供第一溶液，其係將奈米球分散在含有鋅鹽之第一溶劑中；(b) 提供第二溶液，其係將至少兩種量子點前驅物在第二溶劑中混合；(c) 將該第一溶液與該第二溶液混合，以在該奈米球表面上形成一量子點。第一溶劑通常是由兩種選自下列的溶劑組成，包括三辛基膦(trioctylphosphine, TOP)、四氫呋

喃(tetrahydrofuran, THF)、C6-18 烯烴類和二甲基亞砜(dimethylsulfoxid, DMSO)；第二溶劑則是烷胺，例如油基胺(oleylamine)和十六烷胺(hexadecylamine)。量子點前驅物乃是至少兩種選自以下群組之材料，包括：氯化亞銅(I)、三氯化銦(III)、碘化銦(III)、硫粉、硬脂酸鋅、氯化鎘和 Te 粉。量子點本身為順磁性且可以是以下任一種：CuInZn、$CuInS_2$、CdS、ZnS 或 CdTe。

依據一實例，上述的奈米球是由包含以下步驟的方法所形成：(a) 在一極性溶劑中將聚合性材料、無機材料或其之混合物與一藥物彼此混合成一懸浮液，藉此形成一內含藥物的奈米顆粒；和(b) 在該懸浮液中加入至少兩種金屬氧化物前驅物；其中該至少兩種金屬氧化物前驅物可圍繞著該內含藥物的奈米顆粒而自我組裝成一金屬氧化物外殼。在一實施方式中，此聚合性材料是選自由聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯(PE)、聚醯胺、聚酯、聚酐、聚醚、聚縮醛、多醣及磷脂所組成的物質群組中；且此無機材料是選自由氧化鈦、氧化矽和一種由鈣與磷所形成的複合材料所組成的物質群組中。此金屬氧化物外殼是包含以下任一物質之單晶殼層、多晶殼層或是非晶殼，包括 Fe_2O_3、Fe_3O_4、$CoFe_2O_4$、$MnFe_2O_4$ 或 Gd_2O_3。

本揭示內容第二態樣是提供一種奈米裝置。此奈米裝置包括一奈米球和一量子點。此奈米球含有由聚合性材料、無機材料或其之組合所製成的核，以及由金屬氧化物製成的外殼。上述之量子點是沉積在外殼表面，而且此量子點是可以選自以下物質組成的群組中，包括 CuInZn、

$CuInS_2$、CdS、ZnS 和 CdTe。適合包埋在核中的藥物可以是以下任一種：抗癲癇劑、抗腫瘤劑、抗菌劑、抗病毒劑、抗增生劑、抗發炎劑、抗糖尿病劑或是荷爾蒙。

本揭示內容第三態樣是提供一種在活體內追蹤依據上述方法所製造而成之奈米裝置，以及利用磁性誘發藥物自此奈米裝置中釋出的方法。所述方法包含以下步驟：(a)施用足量之本發明奈米裝置到一個體之一身體部位；和(b)以強度在約 0.05 kA/m 至 2.5 kA/m 間的磁場，磁性刺激該身體部位約 10 至 180 秒，使得被包埋在該奈米裝置中的藥物被釋放至該個體中被磁性刺激的身體部位。所述方法更包含以下步驟：藉由 X-光攝影、電腦斷層和核磁共振造影技術，在不外加顯影劑的情況下，以本揭示內容之奈米裝置於活體內追蹤該個體身體部位。所述的身體部位可以是人腦。

透過以下的詳細說明及附隨之請求範圍，可更了解本發明的這些及其他優點。

在敘述前，應瞭解在說明書及後附之申請專利範圍中的用語不應被解釋成限制在一般及字典上的意義，基於為了最佳釋明而允許發明人適當地定義用語之原則，應以對應本發明之技術觀點的意義與觀念而為解釋。因此，於此所提之敘述是僅為說明之目的之一較佳實施例，並非意圖限制本發明的範籌，所以應瞭解在不脫離本發明之精神及範疇下，對本發明為其他均等意義及修改是可能的。

【實施方式】

下文中，將配合附圖詳細說明本發明之較佳實施例。

以下描述用於活體內造影和/或磁性誘發藥物釋放的奈米裝置，其之製備方法與用途。可主動地自遠端控制此新穎的奈米裝置，以便將包埋在此奈米裝置中的藥物釋放至一個體身上的欲求部位，例如人體之腦部區域或任一器官中。而且，可利用適當的影像技術，在有或無額外添加習知顯影劑的情況下，於活體內追蹤此奈米裝置。習知顯影劑的例子包括有硫酸鋇、碘系顯影劑、銦、釓、氧化鐵和/或與錳螯合的氧化鐵。

參照第1(a)圖，其為本發明之奈米級藥物傳送裝置10的示意圖。此奈米裝置10是由繪示在第1(b)圖之奈米球12，與量子點14兩者所共同構成。在此實例中，只繪示出一個量子點14，但是，需了解在必要時，奈米球12上可以包含有多個量子點14。此奈米球12的特徵是具有殼/核結構。核16可由聚合性材料、無機材料或此兩種材料之組合來構成，外殼18則是由金屬氧化物構成。量子點14是沉積在外殼18的表面上。此奈米裝置10是設計成可將藥物包埋在奈米球12之由聚合性材料、無機材料或此兩種材料之組合所構成的核心16中。利用磁場(magnetic field, MF)磁性刺激外殼18使金屬氧化物外殼18變形和/或崩塌，而能以可控制方式將包埋在核16中的藥物20釋出。

製造奈米球

製造奈米球的方法已揭示在公開文獻中(參見 Hu et al., “Core/Single-Crystal-Shell Nanospheres for Conducting

Drug Release via a Magnetically Triggered Rupturing Mechanism", Adv. Mater., 2008 20, 2690-2695)，在此併入其全部揭示內容做為參考。在一實施方式中，奈米球是由包含以下步驟的方法來形成，包括：在諸如水或是 C_{1-6} 醇類的極性溶劑中將 1-10% (重量%)之聚合性材料、無機材料或其之混合物彼此混合成一懸浮液，藉此形成一聚合物型、無機型或聚合物/無機型之奈米顆粒；以及在該懸浮液中加入至少兩種金屬氧化物前驅物；其中該至少兩種金屬氧化物前驅物可圍繞著該內奈米顆粒而自我組裝成一金屬氧化物外殼。

可用來形成奈米球之核心相的適合的聚合性材料，包括，但不限於，聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯(PE)、聚醯胺、聚酯、聚酐、聚醚、聚縮醛、多醣及磷脂。上述之多醣可以是澱粉、纖維素、果膠、幾丁質或甲殼素；且上述之磷脂可以是磷脂膽鹼(PC)、磷脂醯絲胺酸(PS)、磷脂乙醇胺、磷脂醯甘油或卵磷脂。在一實例中，此聚合性材料為 PVP。適當的無機材料包括，但不限於，二氧化鈦、二氧化矽和一種由鈣和磷酸鹽組成的複合材料。在一實例中，此無機材料為二氧化矽；且在另一實例中，此無機材料為二氧化鈦。

可圍繞上述聚合性或無機性奈米顆粒而自我組裝成一種金屬氧化物外殼的金屬氧化物前驅物包括，但不限於，氯化亞鐵(II)、氯化鐵(III)、氯化亞鈷(II)、硝酸亞鐵(II)、醋酸鐵(III)、醋酸鈷(II)、氯化釩(III)和醋酸錳(II)。此金屬氧化物外殼可以是包含以下任一物質之單晶殼

層、多晶殼層或是非晶殼層，包括 Fe_2O_3、Fe_3O_4、$CoFe_2O_4$、$MnFe_2O_4$ 或 Gd_2O_3。

在一實例中，此金屬氧化物外殼是一種單晶型氧化鐵殼層，透過包含以下步驟的方法所形成：在諸如水或是 C_{1-6} 醇類的極性溶劑中，以莫耳比介於約 2：1 至約 5：1 之比例，將包含氯化亞鐵(II)和氯化鐵(III)在內的至少兩種金屬氧化物前驅物混合並形成一懸浮液；調整 pH 值到 7 至 12 間；讓所形成的氧化鐵圍繞著奈米顆粒而自我組裝成一金屬氧化物外殼。適用的 C_{1-6} 醇類可選自甲醇、乙醇、丙醇、異丙醇、丁醇、異丁醇、戊醇、異戊醇、己醇等類似物。也可使用適當的金屬氧化物前驅物，依照上述步驟來形成由其他金屬氧化物構成的金屬氧化物外殼。舉例來說，可以 $CoCl_2$ 和 $FeCl_3$ 來形成 $CoFe_2O_4$ 外殼；以 $MnCl_2$ 和 $FeCl_3$ 來形成 $MnFe_2O_4$ 外殼；或以醋酸釓或 $Gd(OH)_2$ 來形成 Gd_2O_3 外殼。

如果要製造的是載有藥物的奈米球，則可將在上述懸浮液中添加生物活性物質並將其混合均勻，使得藥物可被包埋在聚合性材料或無機性材料結構中；接著如上述方式以金屬氧化物圍繞著含有藥物的奈米顆粒外，進而組裝成金屬氧化物外殼，而形成所需的載有藥物的奈米球。可被包埋在奈米顆粒之核心相中的藥物量多寡，一般需透過實驗來決定，而此多半取決於所要包埋的藥物類型而定。在本文中「藥物(drug)」或「生物活性物質(biological active substance)」兩名詞可交替使用，並係指可用來治療和/或預防多種藥學領域中之情況且可被施用在活的有機體，如

哺乳類動物，特別是人類身上的化合物或組合物。 可用於本文中的藥物包括，但不限於：核酸，如 DNA 或小型干擾性 RNA (siRNA)；胜肽；蛋白質，如牛血清白蛋白、醣蛋白或膠原蛋白；抗生素；抗氧化劑，如維生素 E 或維生素 C (即，抗壞血酸)；免疫原性製備物，例如疫苗；抗癲癇藥劑，例如乙醯唑磺胺(acetazolamide)、卡馬西平(carbamazepine)、可洛巴寧(clobazam)、氯硝安定(clonazepam)、寧神平(diazepam)、乙琥胺(ethosuximide)、乙苯妥因(ethotoin)、非氨酯(felbamate)、磷苯妥因(fosphenytoin)、加巴潘汀(gabapentin)、樂命達(lamotrigine)、左乙拉西坦(levetiracetam)、美芬妥因(mephenytoin)、美沙比妥(metharbital)、甲琥胺(methsuximide)、甲氮醯胺(methazolamide)、除癲達(oxcarbazepine)、苯巴比妥(Phenobarbital)、苯妥因(phenytoin)、苯琥胺(phensuximide)、普瑞巴林(pregabalin)、去氧苯巴比妥(primidone)、丙戊酸鈉(sodium valproate)、司替物醇(stiripentol)、噻加濱(tiagabine)、托吡酯(topiramate)、三甲雙酮(trimethadione)、丙戊酸(valproic acid)、氨己烯酸(vigabatrin)或唑尼沙胺(zonisamide)；抗腫瘤藥劑，例如紫杉醇(taxol)、喜樹鹼(camptothecin, CPT)、抗癌妥(topotecan, TPT)或治癌妥(irinotecan, CPT-11)； 抗菌劑，例如氧化鋅或四級胺化合物 ；抗病毒藥劑，例如無環鳥苷(acyclovir)、雷巴威林(ribavirin)、扎那米爾(zanamivir)、奧噻米爾(oseltamivir)、齊多夫錠(zidovudine)或拉脈優錠(lamivudine)；抗增生藥

劑，例如放線菌素(actinomycin)、阿黴素(doxorubicin)、唐黴素(daunorubicin)、戊黴素(valrubicine)、泛達黴素(idarubicin)、表阿黴素(epirubicin)、博來黴素(bleomycin)、光輝黴素(plicamycin)或絲裂黴素(mitomycin)；抗發炎藥劑，例如類固醇(corticosteroids)、布洛芬(ibuprofen)、除癌錠(methotrexate)、阿思匹靈(aspirin)、水楊酸(salicyclic acid)、二苯氫胺(diphenyhydramine)、人人百炎錠(naproxen)、保泰松(phenylbutazone)、吲哚美辛(indomethacin)或酮基布洛芬(ketoprofen)；抗糖尿病藥劑，包括磺醯尿素(sulfonylureas)，例如甲苯磺丁脲(tolbutamide)、醋磺己脲(acetohexamide)、妥拉磺脲(tolazamide)、氯磺丙脲(chlorpropamide)、吡磺環己脲(glipizide)、格列本脲(glyburide)、格列美脲(glimepiride)或甲磺吡脲(gliclazide)，苯丙胺酸衍生物(meglitinides)，例如瑞格列奈(repaglinide)或那格列萘(nateglinide)；雙胍類(biguanides)例如二甲双胍(metformin)、苯乙双胍(phenformin)或丁双胍(buformin)；噻唑烷二酮類似物(thiazolidinediones)例如羅格列酮(rosiglitazone)、皮利酮(pioglitazone)或曲格列酮(troglitazone)；α-葡萄糖苷酶抑制劑(alpha-glucosidase inhibitors) 例如米格列醇(miglitol)或阿卡波糖(acarbose)；類胜肽(peptide analogs)，例如艾塞那肽(exenatide)、利拉魯肽(liraglutide)、他司魯肽(taspoglutide)、维格列汀(vildagliptin)、佳糖維(sitagliptin)或普蘭林肽(pramlintide)；和荷爾蒙，例如胰島素、表皮生長因子(epidermal growth factor, EGF)和固醇類，例如黃

體素、雌激素、腎上腺皮質類固醇和雄性激素。依據本發明一實施方式，奈米球中所包含的藥物量約在 0.01%至 80%(重量%)之間，例如約 0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5、8、10、12、15、18、20、22、25、28、30、32、35、38、40、42、45、48、50、52、55、58、60、62、65、68、70、72、75、78 或 80 %。任何醫藥領域中具通常技藝的人應可在不需過度實驗下，為使用本發明奈米元件之磁場誘導藥物釋出配方，選擇適當的藥物組合。在一實施例中，此藥物為諸如乙琥胺之類的抗癲癇藥劑。在另一實施方式中，此藥物為諸如喜樹鹼(CPT-11)之類的抗癌藥劑。

在一實施方式中，所製成的奈米球平均直徑約為 10 nm 至 100 nm 間，例如約 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90 或 100 nm；且其之非晶形外殼和單晶核心也暗示成核時，氧化鐵前驅物會圍繞著 PVP 核心而自我組裝成氧化鐵外殼。

製造奈米裝置

本揭示內容之一是有關於一種用來製造可傳送藥物的奈米裝置的方法。所揭示方法特徵為含有以下步驟：

(a) 提供第一溶液，其係將奈米球分散在含有鋅鹽之第一溶劑中，且該鋅鹽與該奈米球在該第一溶劑中的濃度分別為約 1-40 毫克/毫升和 0.02-0.2 毫莫耳/毫升；

(b) 提供第二溶液，其係將至少兩種量子點前驅物在第二溶劑中混合，其中每一種量子點前驅物在該第二溶劑中的濃度約為 0.003-0.03 毫莫耳/毫升；

(c) 在惰性氣體與約 10℃~300℃的溫度下，將該第一溶液與該第二溶液混合，以在該奈米球表面上形成一量子點。

在步驟(a)中，第一溶液是利用在鋅鹽存在下，將奈米球分散在第一溶劑中而形成。奈米球可由上述方法來製造，且奈米球可包含或不包含治療性藥劑或藥物在其核心相中。在一實例中，可依據上述揭示的方法將藥物載入至核心相中。在另一實例中，可將奈米球當作顯影劑使用，因此不需包埋藥物在其核心相中。

第一溶劑通常是由兩種選自下列的溶劑組成，包括三辛基膦 (trioctylphosphine, TOP)、四氫呋喃 (tetrahydrofuran, THF)、C_{6-18} 烴類和二甲基亞砜 (dimethylsulfoxid, DMSO)。在一實例中，第一溶劑是由 TOP 和己烷所組成。可用於本發明之適當的鋅鹽包括，但不限於，二乙基二硫代胺基甲酸鋅鹽。分散在第一溶液中的奈米球濃度約在 1-40 毫克/毫升間，例如約 1、5、10、12、15、18、20、22、25、28、30、32、35、38 或 40 毫克/毫升。分散在第一溶液中的鋅鹽濃度則約在 0.02 - 0.2 毫莫耳/毫升間，例如約 0.02、0.03、0.05、0.06、0.07、0.08、0.1、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19 或 0.2 毫莫耳/毫升。

在步驟(b)中，第二溶液是藉由在第二溶劑中混合至少兩種量子點前驅物所製備而成的。在一實例中，第二溶劑則是烷胺類，例如，油基胺(oleylamine)或十六烷胺(hexadecylamine)。但是，也可使用其他類型的溶劑，只要

該溶劑可將量子點前驅物溶解即可。依據所欲沉積在奈米球外殼表面的量子點種類來選擇適當的量子點前驅物，而適合用在本發明中的量子點包括，但不限於，CuInZn、$CuInS_2$、CdS、ZnS 或 CdTe。如果欲求的量子點是 CdS，則可選擇氯化鎘(II)和硫粉當作量子點前驅物。在一實例中，欲求的量子點是 CuInZn，因此所選的量子點前驅物包括氯化亞銅(I)、三氯化銦(III)、碘化銦(III)和硬脂酸鋅。當所求的量子點是 $CuInS_2$ 時，則可選擇氯化亞銅(I)、三氯化銦(III)、碘化銦(III)和硫粉做為量子點前驅物。在另一實例中，是使用硬脂酸鋅和硫粉做為前驅物來沉積 ZnS 量子點，並使用氯化鎘和 Te 粉來沉積 CdTe 量子點。每一量子點前驅物在第二溶液中的濃度約在 0.003-0.03 毫莫耳/毫升間，例如約為 0.003、0.005、0.007、0.009、0.01、0.012、0.014、0.016、0.018、0.02、0.022、0.024、0.026、0.028 和 0.03 毫莫耳/毫升。

最後，在步驟(c)中，是在諸如氮、氦、氖、氬或其之組合的惰性氣體環境以及介於約 10℃ 至 300℃ 的溫度下，將第一溶液與第二溶液彼此混合，以在奈米球表面形成量子點。在一實例中，操作溫度是設在約 140℃。

依據上述方式所製造成的奈米裝置可做為一種藥物載體，用來傳送藥物到一受測個體體內的任一標的位置處，例如人體的腦部或任何其他器官；或是可將所製造成的奈米裝置當作一種工具來造影並追蹤受測個體內標的位置處之藥物的藥物動力學。

活體內造影及磁性誘發藥物釋放

本揭示內容更進一步態樣在於提供一種活體內造影及磁性誘發藥物自依前述方式製成之奈米裝置中釋出的方法。所揭示方法包含以下步驟：(a) 施用足夠量之本發明的奈米裝置到受測個體的身體部位；及(b) 在該身體部位施加一介於約 0.05 kA/m 至 2.5 kA/m 的磁場一段約 10 至 180 秒的時間，來磁性誘發該奈米裝置，使包埋在該奈米裝置中的藥物可被釋放至該受測個體的身體部位中。所揭示方法更包括以下步驟：在不使用額外添加的顯影劑情況下，以選自下列的造影方法來追蹤該受測個體的身體部位，包括電子自旋共振(electron spin resonance, ESR)造影、X-光造影、電腦斷層(computed tomography, CT)造影和核磁共振(MRI)造影。

本文所指的受測個體是人類或非人類的動物。非人類的動物實例包括所有的脊椎類動物，例如哺乳類，如靈長類、狗、囓齒類(如，小鼠與大鼠)、貓、羊、馬或豬；和非哺乳類，如鳥類、兩棲類、爬蟲類等。在一實例中，此受測個體是人類。本揭示內容的奈米裝置可利用吸入或注射方式而系統性地施用到受測個體體內；或利用靜脈注射或表面塗抹而施用至局部區域，例如施用到腸胃道、肝或腎臟系統，或是到如腹部、腰部脊柱、手臂或腿的區域)或同樣利用靜脈注射或表面塗抹而施用至受測個體體內或體表的特定治療部位。這些和其它可能的施用方法、途徑已是此技術領域中熟習技術人士所能了解並輕易掌握的技術，因此也應涵蓋在本揭示內容的範疇中。適合進行

注射的身體部位可依據以下條件來選擇，例如所欲釋出的活性藥劑種類、個體個人身體狀況包括性別、年齡、體重、和/或目前及過去的病史。有經驗的醫師可在不需過度實驗的情況下來決定適合進行注射的身體部位。在一實例中，此身體部位是人類的上臂部位。在另一實例中，此身體部位是人類的腦部。依據本揭示內容更進一步的實施方式，所述的奈米裝置不會對即將吸入或注射此奈米裝置的人體健康有任何安全性上的威脅，亦即，此奈米裝置沒有毒性。

依據本揭示內容的實施例，可利用注射、口服、灌注或類似方式，將此裝載有藥物的奈米裝置引入至受測個體的一身體部位內，讓此奈米裝置在有興趣的身體部位內的器官或區域處，也就是希望藥物被釋出的部位(例如腦部)，具有較高濃度。在此奈米裝置本身保持幾乎完整的情況下，可利用電子自旋共振(electron spin resonance, ESR)造影技術來追蹤此奈米裝置在體內該深體部位中的濃度與分佈。ESR是一種核磁共振造影技術，藉由通常發生在順磁材料中的動態核極化所強化的磁共振來產生影像。通常是以顯影劑的電子過渡頻率照射該特定身體部位來進行追蹤，在本揭示內容中，顯影劑即為奈米裝置的氧化鐵外殼。或者，也可合併使用本揭示內容的奈米裝置與其它習知的顯影劑，一起來提供高品質的影像。適當的顯影劑包括，但不限於，硫酸鋇、碘系顯影劑、銦、釓、氧化鐵及錳螯合劑。

待測量過最初的影像之後，利用磁場誘發使奈米裝置的金屬氧化物外殼完全或部分崩解，而將包埋在奈米裝置核心相中的藥物釋放到標的位置。詳言之，以磁場照射該身體部位一段時間，例如約 10 秒至 180 秒，以釋出所包埋的藥物到該身體部位中，而產生特定的治療效果，例如轉錄基因或治療癌症。磁場(magnetic field, MF)的強度從約 0.05 kA/m 至約 2.5 kA/m，例如約 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4 或 2.5 kA/m。施加 MF 的期間從約 10 秒到約 180 秒，例如約 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170 或 180 秒。一旦經過磁性刺激後，沉積在外殼層表面上的量子點會吸收磁性能量，使奈米裝置的金屬氧化物外殼變形，進而使包埋在核心相中的藥物可被釋放出來到標的位置。在最極端的情況下，整個金屬氧化物外殼在磁場刺激後會完全崩解，使得藥物被迅速釋出。因此，可透過控制所施加磁場的強度與時間，來控制被釋出的藥物量多寡。換言之，可透過適當的調整施加到身體特定部位處的磁場強度和/或時間，來控制性地釋出包埋在本揭示內容奈米裝置中的藥物量。

一旦包埋在核心相中的藥物被釋出後，即可利用 MRI 技術進行後續測量，以繪出該藥物的藥動學關係，因此，可利用 MRI 中的 NMR 訊號來監控/測量所釋出藥物的濃度和/或分佈。舉例來說，利用 NMR 訊號來監控所釋放藥物的動力學或產生可顯示顯影劑(即，本揭示內容的奈米裝置)

分佈的三維影像，並用以推測所關連藥物之相符的藥動性質。

依據本揭示內容另一實施例，可使用本揭示內容一空的奈米裝置作為顯影劑來追蹤或造影另一活性藥物(例如，安非他命)，此活性藥物可在施用過本揭示內容的奈米裝置後，再被注射或聚集到個體之一標的處。

以下，將透過特定實施例及附隨圖示，進一步闡述本發明內容。需知，除非另做說明，否則圖示中相同元件符號代表相同元件。

實施例

以下實施例係為了闡述本發明特定態樣而提供，本發明範疇並不侷限於此。

實施例 1　製造及分析包埋有模型藥物的奈米裝置

1.1　製造 PVP-Fe_3O_4 核-殼奈米球

將聚乙烯基吡咯烷酮 (PVP)溶在蒸餾水中，使濃度為 4%(重量%)，接著將此 PVP 溶液加熱至 80℃。在此 PVP 溶液中，加入 0.01 毫克的綠色螢光物質-異硫氰酸螢光素 (fluorescein isothiocyanate, TITC)，攪拌混合約 6 小時。溶液中的 PVP 會自動組裝成奈米球並將 FITC 包埋在其中而形成載有 FITC 的 PVP 奈米顆粒。在充氮下，將 $FeCl_3 \bullet 6H_2O$ 和 $FeCl_2 \bullet 4H_2O$ (其中 $FeCl_2/FeCl_3$ 的莫耳比約為 2：1)溶在水中並與上述載有 FITC 的 PVP 奈米顆粒在 80℃下劇烈攪拌。4 小時後，再緩慢地加入 2 毫升的氨水(NH4OH, 33%)，使氧化鐵外殼可沉積在 PVP 奈米球的表面。接著，將溶液在 6000 rpm 下離心，移除上清液並收

集沉澱。以蒸餾水清洗沉澱 4 次。利用離心分離出 PVP-Fe_3O_4 核殼奈米球。

第 2(a)圖繪示出依據本實施例步驟用來形成可傳送藥物之奈米裝置的操作圖。第 2(b)及 2(c)圖分別為依據本實施例所製成之奈米球的穿透式電子顯微鏡(TEM)照片和高解析度穿透式電子顯微鏡(HRTEM)照片。從第 2(b)及 2(c)圖的結果可確認每一奈米球為直徑在 10-15 nm 間的球體，且具有一非晶型核心和一單晶殼層結構，顯示氧化鐵前驅物在成核後可圍繞著此 PVP 核心自我組裝成一外殼。

1.2 在實施例 1.1 之奈米球表面上沉積 Zn-Cu-In-S (ZCIS) 量子點

為了在奈米球表面上成長 ZCIS 量子點，將實施例 1.1 的奈米球重新懸浮在含有 0.1-1 毫莫耳二乙基二硫代氨基甲酸鋅鹽($[(C_2H_5)_2NCSS]_2Zn$)的三辛基膦(TOP，90%，技術級)中。進一步以十八烯(ODE，90%，技術級)來稀釋上述溶液以形成第一溶液。接著，在 50℃下將 CuCl 與 $InCl_3$ 溶在油基胺中以形成第二溶液。接著，在氮氣下將兩種溶液混合並加熱到 140℃，以使量子點沉積在實施例 1.1 的奈米球表面上。

第 2(d)圖是摻雜有 ZCIS 之奈米球的 HRTEM 照片，其中在奈米球的環形殼上沉積有 ZCIS 量子點的固體顆粒，且此懸浮液在 UV 光下會產生螢光(參見第 2(d)圖中的插圖)，表示本實施例的奈米裝置不只能做為傳送藥物的載體，還可做為造影用的奈米碳針。能量分散 X-光光譜儀(energy dispersive X-ray spectrometer, EDS)分析確認此環

狀區域主要是由Fe組成且該固體顆粒主要是由Cu和S組成(並未示出數據)。

進一步以超導量子干涉裝置(super quantum interference device, SQUID)(MPMS-XL7)在298K且磁場強度在-10000至+10000 G之間的條件下，來分析實施例1.2之奈米裝置和實施例1.1的奈米球(亦即，奈米球的外殼上沒有量子點沉積)的磁性。結果示於第3圖。實施例1.2之奈米裝置和實施例1.1的奈米球兩者都表現出超磁行為，且因為稀釋效應，使得實施例1.2之奈米裝置，相較於實施例1.1的奈米球來說，具有較小的飽和磁化強度(Ms)。

1.3 從實施例1.2之奈米裝置中控制釋放其中所包埋的模型藥物

將上述實施例所製成的奈米裝置放在強度在50~100 kHz間的高頻磁場(HFMF)，使得所包埋的模型藥物(亦即，綠螢光物，FITC)能從奈米裝置中釋出。利用電力、功能產生器、放大器和冷卻水來創造出此HFMF。類似的設備揭示在PNAS的文章中(vol 103, 3540-3545 (2006))。磁場強度端視所用線圈而定。在此實例中，此線圈包括8個迴圈。將頻率設在50 kHz且磁場強度(H)大約為2.5 kA/m。以循環水將HFMF產生器的溫度控制在25℃。在20毫升磷酸緩衝液(pH 7.4)中測量從0.05%(重量%)之磁性奈米裝置中釋出藥物的模式。以PL光譜儀(PL螢光光譜儀F-4500，日立，日本)來測量施加50 kHz高頻磁場(HFMF)後，染料分子的釋出模式與奈米裝置的螢光強度。以0.05%(重量%)的濃度，將實施例1的奈米裝置分散在水中

一段不同時間，X-光光電光譜(XPS)是在陽極配備有1253.6電子伏特的Mg Kα之ESCALAB 250 (Thermo VG Scientific, West Sussex, UK)中執行。相對於284.6 eV、C 1秒的波峰來標準化 XPS 波峰的化學位移。結果示於第 4圖中。

在施加磁場之前，當載有 FITC 的奈米球被儲存在室溫下 24 小時，並未發現有任何藥物釋出，此觀察結果又經以 PL 光譜儀進行監控及觀察後確認，表示染料可被包埋在核心相中一段長時間而不會滲漏出來。但是如第 4(a)圖所示，一旦施加 HFME 不同時間之後，自奈米球中釋出之模型藥物所發射出來的綠螢光強度在 517 nm 下，會隨著所施加磁場強度的增加而提高，相反的，量子點的紅螢光強度則會隨著所施加磁場時間的增加而減少。同時還測試不同程度的 HFME 對藥物從實施例 1 的奈米裝置中釋出的影響，結果示於第 4(b)圖中。對所施加的 3 種不同強度的 HFME 而言，螢光強度與所施加 HFME 的時間長短具有線性關係，此代表可透過施加預定強度的 HFME 一段預定的時間，而以控制釋放的方式將所包埋的模型藥物釋出，且可利用奈米裝置的 ZCIS 量子點，來監控模型藥物被釋出的情況。

1.4 活體外監控自實施例 1 之奈米裝置中釋出模型藥物

將人類子宮頸癌細胞株(Hela 細胞)維持在添加有10%胎牛血清、100 單位/毫升之盤尼西林和 100 μg/ml 之鏈黴素(streptomycin)的 DMEM 培養基中。然後將細胞放在 37℃下含有 5% CO_2 的環境下進行培育。在培養基中加

入實施例 1 之奈米裝置，與細胞一起培育 12 小時。接著，以 HFMF 處理細胞 0、90 和 180 秒，以 PL 顯微鏡(Nikon TE-2000U，日本)來觀察細胞。以數位分析軟體(Nikon，日本)來分析模型藥物和奈米裝置的螢光強度，且每一種顏色通道的曝光條件都相同。Nikon C1 軟體來進行分析，其將螢光強度分成 1 至 255。螢光強度的範圍如下：藍色通道(60-255)、綠色通道(40-255)、紅色通道(30-255)。結果示於第 5 及 6 圖。

如第 5 圖所示，施加磁場時間從 0 秒增加到 180 秒可使模型藥物或螢光物質(綠色通道)快速地從細胞中釋出，而同時間可偵測 ZCIS 量子點的螢光強度(紅色通道)則跟著下降。以數位分析軟體(Nikon，日本)來分析模型藥物和 ZCIS 量子點的螢光強度。B_{sum}、G_{sum} 和 R_{sum} 分別代表影像中藍色、綠色和紅色通道中的總螢光強度。藍螢光是肇因於以 DAPI 染色的細胞核，且預期每一細胞中此螢光強度應該相去不遠。因此，在每一張影像中均以藍色通道的強度當作標準。G_{sum} 和 R_{sum} 則是分別代表來自釋出藥物與量子點的總螢光強度。G_{sum}/B_{sum} 代表綠色通道的螢光強度與藍色通道之螢光強度的比值，也代表每一細胞中奈米裝置的相對強度。結果示於第 6 圖中。G_{sum}/B_{sum} 和 R_{sum}/R_{sum} 與細胞中磁場強度的長短分別產生兩條曲線。這些曲線顯示細胞中相對的藥物濃度(以 G_{sum}/B_{sum} 表示)會隨著刺激期間的增加而增加，相反的，同一時間內，奈米裝置的螢光強度(亦即，來自 ZCIS 量子點的螢光強度，以 R_{sum}/R_{sum} 表示)則成比例地下降。

實施例 2　以包埋有抗癌藥劑的奈米裝置進行活體外治療

2.1　讓細胞吸入實施例 1 之奈米裝置

在執行體外治療之前，依據以下所述步驟以共軛焦顯微鏡來評估細胞吸入實施例 1 之奈米裝置的能力。

簡言之，將人類肺腺癌 A549 細胞株養在內含 10%胎牛血清、1%盤尼西林/鏈黴素的 DMEM 培養基中。然後將細胞放在 37℃下含有 5% CO_2 的環境下進行培育。A549 細胞株是養在 6 孔盤內，在其培養基中加入實施例 1 之載有 FITC 模型藥物的奈米裝置，與細胞一起培育不同時間，接著以磷酸緩衝液(PBS, pH 7.4)清洗 3 次，以移除未被吸入細胞中的過量奈米裝置。以 3%甲醛將細胞固定後以 DAPI 和若丹明溶液染色，然後放在共軛焦顯微鏡下進行觀察。

可發現加入奈米裝置培育 2 小時後，這些奈米裝置已聚集在細胞中(參見第 7 圖)，證明細胞可迅速、有效地自行吸入這些奈米裝置。

2.2　奈米裝置在細胞內的毒性分析與其對細胞存活率的影響

以 MTT 試驗來分析實施例 1.1 之奈米顆粒與實施例 1.2 之奈米裝置在 A549 細胞中的活體外毒性試驗。簡言之，先將 A549 細胞培養在 96 孔培養盤中(10^4 細胞/盤)，然後在 37℃下，將細胞暴露在一系列不同濃度的實施例 1.1 之奈米顆粒或實施例 1.2 之奈米裝置下。結束後，在培養基中加入 20 μl 的 MTT 溶液並繼續培育 4 小時。接著，

以 200 μl 的 DMSO 來取代培養基並以 Sunrise 吸收盤讀值器在 570 nm 和 650 nm 下來監控吸光值。

第 8 圖顯示實施例 1.1 之奈米顆粒與實施例 1.2 之奈米裝置對 A549 細胞的細胞毒性影響，第 9 圖則繪示出細胞存活的結果。實驗發現，無論是以濃度高達 200 微克/毫升的奈米顆粒或奈米裝置來處理細胞 48 小時，都不會對細胞造成任何毒殺的作用(第 8 圖)。細胞的存活率達 85%(第 9 圖)。這些結果顯示實施例 1 的奈米顆粒或奈米裝置與活細胞間具有生物可相容性。

2.3 以包埋有抗癌藥劑的奈米球或奈米裝置進行活體外治療

除了以喜樹鹼(CPT)來取代綠螢光物質-FITC 之外，大致依照實施例 1 所述方式來製備出包埋有抗癌藥劑的奈米裝置。以 MTT 試驗來評估載有 CPT 之奈米裝置對癌細胞的抗癌效果。簡言之，以載有 CPT 的奈米裝置來處理 A549 細胞約 6 小時，接著以不同強度的 HFMF 來刺激細胞一段時間，以便將 CPT 從奈米裝置的核心相中釋放至細胞中。接著繼續培育細胞約 18 小時，然後以 MTT 試驗來決定細胞的存活率。

第 10 圖示出以載有 CPT 之奈米裝置處理 A549 細胞並磁性誘發釋出 CPT 後，細胞的存活率。經載有 CPT 之奈米裝置處理過的癌細胞，其存活率大幅下降，一般認為這是因為受到熱與藥物兩者影響所產生的結果。

本實施例的結果證明以本發明所述方式製成之載有 CPT 的奈米裝置乃是一種絕佳的藥物傳送系統，其具有良

好的生物可相容性、高細胞吸收率、磁敏特性且可在 HFMF 下進行藥物的控制釋放。

實施例 3　以包埋有抗癲癇藥劑的奈米裝置進行活體治療

3.1　製造內含乙琥胺(ESM)之奈米裝置

除了以抗癲癇藥劑-乙琥胺(ESM)來取代綠螢光物質-FITC 之外，大致依照實施例 1 所述方式來製備出包埋有乙琥胺的奈米裝置，並以此奈米裝置來實施活體治療。

3.2　活體內治療癲癇

在本試驗中使用 Long-Evans 和 Wistar 雄鼠，所有的小鼠均飼養在室溫、隔音且白天-黑夜各 12 小時(照光時間從早上 7 點到晚上 7 點)且可自由使用食物與水的環境中。整個實驗流程是經過動物照護與使用委員會的認可後實施。簡言之，以巴比妥酸鹽(60 毫克/毫升，注射)將動物麻醉後，植入紀錄電極。接著，將小鼠放在標準的立體定位儀(stereotaxic)中。在從頭骨內雙向覆蓋皮質層之額骨(相對於前囟，A +2.0, L 2.0)和枕骨區域(A-6.0, L 2.0)總計鎖進 6 根不鏽鋼螺絲以紀錄皮質的場電位。在從尾部到第 11 節(lambda)間約 2mm 處植入接地電極。以牙科用接合劑將插座固定在頭骨表面。接著以手術線縫合，給予動物抗生素(氯四環黴素)並單獨飼養在籠中，待其復原。

在本實驗中使用 Long-Evans 小鼠的原因是這類小鼠經常表現出自發性的突波放電(spike-wave discharge, SWDs)，依據許多方面的證據，已知這種 SWDs 與癲癇有關。為了確認 SWDs 是經由皮質控制，使用了另一種藥學

上的癲癇鼠模型，亦即在 Wistar 小鼠上注射低劑量戊烯四唑(20 毫克/公斤，靜脈注射)。在此初步的動物試驗中，比較了生理食鹽水、乙琥胺(ESM)、內含 ESM 的奈米球(奈米球-ESM)、和內含 ESM 的奈米裝置(奈米裝置-ESM)對 Long-Evans 小鼠之自發性 SWDs 的效果。製備出大小為 5 毫米 x 5 毫米 x 0.02 毫米的晶片，然後將其植入小鼠的腹腔中，其它劑量則經由靜脈注射來施予。結果示於第 11 與 12 圖中。

第 11 圖繪示出對實驗動物施用生理食鹽水、乙琥胺(ESM)、內含 ESM 的奈米球(奈米球-ESM)、和內含 ESM 的奈米裝置(奈米裝置-ESM, device-ESM)後對 SWDs 的影響。SWDs 並無明顯變化。在此實驗中，分別紀錄了處理前 1 小時(基礎線)與處理後 30 分鐘後的腦波活動。將兩次 1 小時的基礎線平均做為指數。在施用奈米球-ESM 與奈米裝置-ESM 時，小鼠是被固定在一塑膠箱中並放到線圈中心，然後以磁場刺激(2.5 kA/m)使 ESM 能夠從所製備的奈米球或奈米裝置中釋放出來。雖然很難量化釋出到小鼠體內的 ESM 含量，但可以確定的是，相較於單獨使用 ESM (第 11(b)圖)來說，無論是從奈米球-ESM (第 11(c)圖)或是從奈米裝置-ESM (第 11(d)圖)釋出到小鼠體內的 ESM 量，明顯可減少出現自發性 SWDs 的數目與其持續期間。

第 12 圖繪出在施用生理食鹽水、ESM、奈米球-ESM 和奈米裝置-ESM 之前或之後，小鼠體內 SWDs 數目與其總持續期間。結果顯示不同形式的 ESM 可以明顯的減少自發性 SWDs 出現的數目與其總持續期間。

這些體內數據，僅管仍屬非常初步的結果，顯示具有 ESM 的奈米顆粒與晶片可透過外加磁場刺激成功地使藥物釋出，一如體外試驗中所觀察到的一般。同時，被釋出的 ESM 具有明顯可抑制 SWDs 的治療性效果。

實施例 4　以核磁共振造影(MRI)於活體內追蹤奈米裝置

4.1　活體外 MRI

除了以 0.5% PVP 做為聚合性材料且最終的鐵濃度設定在不超過 150 克鐵/毫升之外，大致依據實施例 1 所述步驟製備奈米裝置樣品。為了進行 MRI 造影，分別以 0.47 T 核磁共振來測量 R1(自旋晶格放鬆速率)與 R2(自旋-自旋放鬆速率)。奈米裝置的 R1 與 R2 分別為 63.2 $mM^{-1}sec^{-1}$ 和 372.8 $mM^{-1}sec^{-1}$，且均高於大部分的商業產品。

4.2　活體內 MRI

本實驗中使用了 5 隻 Wistar 雄鼠(國家動物中心，台灣)，體重都在 250~300 公克左右。先以 3%的異氟烷(isoflurane)將動物麻醉。接著從左股靜脈插入一根 PE-50 導管，以便後續施用α-氯醛糖(α-chloralose)麻醉劑(70 毫克/公斤體重)。將麻醉的小鼠固定，以循環的溫水系統維持其體溫。以兩個耳柱和門牙固定器(incisor fixer)來固定小鼠的頭部，並以膠帶固定其身體。

以配備有主動遮蔽梯度系統(500 微秒內，0~5.9 G/cm)的 Bruker Biospec BMT 47/40 4.7 T 系統來截取影像。以一個 20 公分的線圈做為 RF 發射器，並在頭部放置一個 2 公分的表面線圈做為接收器。沿著正中矢狀平面取得一 T_2-

權重的影像，透過鑑別出前聯體(前囟-0.8 mm)來找出解剖學上的位置。第 13 圖示出以自旋回聲順序(TR = 4000 ms, TE = 80 ms, FOV = 4 cm, SLTH = 2 mm, NEX = 2, 且截取矩陣為 256 x 128，且在填入 0 之後的矩陣為 256 x 256)所取得的四切 T_2-權重的影像(分別位於前囟-0.8 mm, -2.8 mm, -4.8 mm 和 -6.8 mm)。13 圖影像顯示當注射或奈米球或奈米裝置於動物體內時，可使腦部的血管及組織的解析能力大大的提升。

對動態灌注影像而言，在同樣位置取得 120-重複四切梯度回聲影像(TR = 215 ms, TE = 20 ms, 翻轉角度= 22.5°, FOV = 4 cm, SLTH = 2 mm, NEX = 1, 且截取矩陣為 256 x 64，且在填入 0 之後的矩陣為 256 x 256)，且每一張影像費時 13 秒。由於在血液中的半生期非常長，因此注射至動物體內的奈米裝置，可產生穩定且持續期相當長的 MR 掃描影像。在腦實體(parachymal)中可觀察到 MR 訊號減弱約 45% (第 14 圖) 。

4.3 以實施例 1 之奈米裝置做為顯影劑於活體內進行藥學性 MRI 診斷

為進行藥學性 MRI 實驗，取得 40-重複四切梯度回聲影像(其他的掃描影像與上述相同)，且在第 10 次的時間處注射入 IOP (30 毫克/公斤體重)。循環 15 分鐘後，取得 100-重複四切梯度回聲影像並在第 20 次時間處，注射入安非他命 (2 毫克/公斤體重)。

安非他命在此是當作功能性刺激劑來顯露出經α-氯醛糖麻醉後不同的局部腦血液體積(regional cerebral blood volume, rCBV)與活化區域。實驗發現活化區域包括紋狀體、腦幹和下視丘，如第 15 圖所示，且訊號差異也與先前多巴胺刺激實驗相對應。此外，使用實施例 1 之奈米裝置做為顯影劑也揭露腦部在安非他命刺激後的時間模式，不只提供較佳的對比-雜訊比(contrast-to-noise, CNR)，同時也使有意義的神經血管反應測量變得可行。

如上所述，本發明之較佳實施例已經參照附圖而詳細地敘述。然而，應瞭解當中所表示為本發明之較佳實施例者，其中詳細的敘述以及特定的實驗例僅為說明之目的而已，對本發明所屬技術領域中之技術人士而言，由以上詳細地說明，在本發明之範疇與精神內為各式變化與修改是顯而易見的。

【圖式簡單說明】

為讓本發明之上述和其他目的、特徵、優點與實施例能更明顯易懂，所附圖式之說明如下：

第 1(a)及 1(b)圖為本發明一實施方式中所述之奈米級藥物傳送裝置與奈米球的分解示意圖；

第 2(a)圖為本發明一實施方式中用來製造包含有聚合物核以及圍繞此聚合物核自我組裝成之單晶氧化鐵外殼的奈米裝置的方法示意圖；

第 2(b)及 2(c)圖依據為本發明一實施方式製成之奈米球的穿透式電子顯微鏡(TEM)照片和高解析度電子顯微鏡(HRTEM)照片；

第 2(d)圖依據為本發明一實施方式製成之奈米裝置的高解析度電子顯微鏡(HRTEM)照片，其中在奈米球的環形外殼上沉積有 ZClS 的量子點且此懸浮液在 UV 光照射下會發出螢光(插入圖)；

第 3 圖為依據本發明實施方式所製成的奈米球與奈米裝置其分別與磁場強度間之依賴關係的曲線圖；

第 4(a)圖為以 HFMF 處理包埋有模型藥物的奈米裝置(30 mg/10 ml 水)約 0~100 秒時的發射光譜；

第 4(b)圖為在各種不同磁場強度下分別從模型藥物 FITC 和 ZClS 量子點所發射出來的光譜強度；

第 5 圖為依據本發明實施方式以包埋有 FITC 之奈米裝置處理 Hela 細胞 12 小時後所拍攝的螢光照片，其中 G_{sum}/B_{sum} 代表綠螢光強度比上藍螢光強度的比值且其代表每一細胞中模型藥物 FITC 的相對濃度，R_{sum}/B_{sum} 代表每一細胞中奈米裝置的相對強度；

第 6 圖代表第 5 圖中細胞的 G_{sum}/B_{sum} 與 R_{sum}/B_{sum} 相對於磁場刺激期間長短的關係；

第 7 圖為依據本發明實施方式細胞吸入奈米裝置的情況，此照片是在以奈米裝置處理細胞 2 小時後所拍攝的；

第 8 圖為依據本發明實施方式使細胞吸入奈米球或奈米裝置 12、24 及 48 小時後所測量到的細胞毒性結果；

第9圖為依據本發明實施方式以載有CPT的奈米裝置處理癌細胞12、24及48小時後所測量到的細胞存活率結果；

第10圖為依據本發明實施方式，以載有CPT的奈米裝置處理細胞並使細胞吸入該奈米裝置後，以HFMF磁性刺激該載有CPT的奈米裝置不同時間來使藥物釋出的結果；

第11圖示出依據本發明實施方式，對實驗動物施用(a)生理食鹽水、(b) 乙琥胺(ESM) (28 mg/Kg, ip)、(c) 內含ESM的奈米球(奈米球-ESM) (48 mg/Kg, ip)、和(d)內含ESM的奈米裝置(奈米裝置-ESM, device -ESM) (40 mg/Kg, ip)後對SWDs的影響；

第12圖繪出依據本發明實施方式，在施用生理食鹽水、ESM (0.5 ml, 28 mg/Kg, ip)、奈米球-ESM (40 mg/Kg, ip)和奈米裝置-ESM (40 mg/Kg, ip)之前或之後，小鼠體內SWDs數目與其總持續期間：

第13圖分別繪出依據本發明實施方式，將奈米裝置注射到小鼠腦部之前(上排)與之後(下排)，所拍攝的T_2-權重影像；

第14圖為第13圖小鼠腦部區域的動態顯影強化MRI，其中(A)是注射奈米裝置30分鐘後所擷取的T_2-權重影像，(B)和(C)則分別是右腦半球與左腦半球的訊號模式，紅色箭頭代表注射奈米裝置的時間；且

第 15 圖是安非他命刺激後小鼠腦部的 MRI 影像以及安非他命的活化時間圖，其中分別以熱與冷的顏色代表事件相關程度為+0.5 及-0.5。

【主要元件符號說明】

10	奈米級藥物傳送裝置	12	奈米球
14	量子點	16	核心
18	外殼	20	藥物

七、申請專利範圍：

1. 一種製造奈米級藥物傳送裝置的方法，包括以下步驟：

提供一第一溶液，其係將一奈米球分散在含有鋅鹽之一第一溶劑中，其中該奈米球與該鋅鹽在該第一溶液中的濃度分別為約 1-40 毫克/毫升和約 0.02-0.2 毫莫耳/毫升；

提供一第二溶液，其係將至少兩種量子點前驅物在一第二溶劑中混合，其中每一量子點前驅物在該第二溶液中的濃度約為 0.003-0.03 毫莫耳/毫升間；

在一惰性氣體存在下，於一介於 10℃ 至 300℃ 的溫度下，將該第一溶液與該第二溶液混合，以在該奈米球表面上形成一量子點。

2. 如請求項 1 所述之方法，其中該奈米球是由以下步驟所製成：

在一極性溶劑中，將 1-10% (重量%)之一聚合性材料或一無機材料與約 0.01-80% (重量%)之一藥物彼此混合成一懸浮液，藉此形成一內含藥物的聚合性或無機性奈米顆粒；和

在該懸浮液中加入氧化物前驅物(其莫耳比約為 2：1 至約 5：1 間)，並在約 20℃ 至約 120℃ 下劇烈攪拌約 2-12 小時；

其中該金屬氧化物前驅物可圍繞著該聚合物型或無機型奈米顆粒而自我組裝成一金屬氧化物外殼。

3. 如請求項 2 所述之方法，其中該極性溶劑是水或 C_{1-6} 的醇類。

4. 如請求項 3 所述之方法，其中該聚合性材料是選自以下任一種：聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯(PE)、聚醯胺、聚酯、聚酐、聚醚、聚縮醛、多醣或磷脂；且該無機性材料是選自以下任一種：二氧化鈦、二氧化矽或由鈣與磷組成之複合材料中。

5. 如請求項 4 所述之方法，其中該上述之多醣是以下任一種：澱粉、纖維素、果膠、幾丁質或甲殼素；且該磷脂是以下任一種：磷脂膽鹼(PC)、磷脂醯絲胺酸(PS)、磷脂乙醇胺、磷脂醯甘油或卵磷脂。

6. 如請求項 3 所述之方法，其中該金屬氧化物前驅物是選自以下任一種：氯化亞鐵(II)、氯化鐵(III)、氯化亞鈷(II)、硝酸亞鐵(II)、醋酸鐵(III)、醋酸鈷(II)、氯化釓(III)和醋酸錳(II)。

7. 如請求項 3 所述之方法，其中該金屬氧化物外殼是一種包含有以下任一種化合物的單晶殼層、多晶殼層或非晶殼層，包括：Fe_2O_3、Fe_3O_4、$CoFe_2O_4$、$MnFe_2O_4$ 或 Gd_2O_3。

8. 如請求項 6 所述之方法，其中該金屬氧化物前驅物包含氯化亞鐵(II)和氯化鐵(III)，且該金屬氧化物外殼是一種利用以下步驟形成之單晶殼層：

在水中以莫耳比約 2：1 之比例，混合氯化亞鐵(II)和氯化鐵(III)；

調整 pH 值到 7 至 12 間；及

讓所形成的氧化鐵圍繞著該聚合物型或無機型奈米顆粒而自我組裝成該金屬氧化物外殼。

9. 如請求項 1 所述之方法，其中該第一溶劑是由兩種選自下列的溶劑組成，包括三辛基膦(trioctylphosphine, TOP)、四氫呋喃(tetrahydrofuran, THF)、C6-18 烯烴類和二甲基亞砜(dimethylsulfoxid, DMSO)；且第二溶劑則是油基胺(oleylamine)或十六烷胺(hexadecylamine)。

10. 如請求項 1 所述之方法，其中該鋅鹽是二乙基二硫代胺基甲酸鋅鹽。

11. 如請求項 1 所述之方法，其中該量子點是以下任一種：CuInZn、$CuInS_2$、CdS、ZnS 或 CdTe。

12. 如請求項 11 所述之方法，其中 $CuInS_2$ 是由至少兩種選自以下的量子點前驅物所形成，包含 CuCl、$InCl_3$、InI_3 和硫粉。

13. 如請求項 11 所述之方法，其中 CuInZn 是由至少兩種選自以下的量子點前驅物所形成，包含 CuCl、$InCl_3$、InI_3 和醋酸鋅。

14. 如請求項 11 所述之方法，其中 CdS 是由至少兩種選自以下的量子點前驅物所形成，包含 $CdCl_2$ 和硫粉。

15. 如請求項 11 所述之方法，其中 CdTe 是由至少兩種選自以下的量子點前驅物所形成，包含 $CdCl_2$ 和碲(Te)粉。

16. 如請求項 11 所述之方法，其中 ZnS 是由至少兩種選自以下的量子點前驅物所形成，包含醋酸鋅和硫粉。

17. 如請求項 1 所述之方法，其中該溫度是 140℃。

18. 如請求項 1 所述之方法，其中該惰性氣體是以下任一種：N2、He、Ne、Ar 或其之組合。

19. 一種藥物傳送裝置，其係以請求項 1 所述方法製造而成的。

20. 一種奈米裝置，包含：

一奈米球，包含：

一核心，由一聚合性材料或一無機材料製成；和

一外殼，由一種金屬氧化物製成；

一量子點，沉積在該外殼之外表面上，其中該量子點是以下任一種：CuInZn、$CuInS_2$、CdS、ZnS 或 CdTe。

21. 如請求項 20 所述之奈米裝置，其中該聚合性材料是選自以下任一種：聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯(PE)、聚醯胺、聚酯、聚酐、聚醚、聚縮醛、多醣或磷脂；且該無機性材料是選自以下任一種：二氧化鈦、二氧化矽或由鈣與磷組成之複合材料中。

22. 如請求項 20 所述之奈米裝置，其中該金屬氧化物外殼是一種包含有以下任一種化合物的單晶殼層、多晶殼層或非晶殼層，包括：Fe_2O_3、Fe_3O_4、$CoFe_2O_4$、$MnFe_2O_4$ 或 Gd_2O_3。

23. 如請求項 20 所述之奈米裝置，其中該奈米球具有一介於約 10 nm 至 100 nm 間。

24. 如請求項 20 所述之奈米裝置，其中該量子點具有順磁性，且該奈米裝置能被一種選自以下的造影技術加以追蹤及造影，包括：電子自旋共振(ESR)造影、X-光攝影、電腦斷層和核磁共振造影(MRI)。

25. 如請求項20所述之奈米裝置，更包含一藥物，包埋在該核心中，且該藥物可在以約 0.05 kA/m 至約 2.5 kA/m 的磁場刺激該量子點後，自該核心中釋出。

26. 如請求項25所述之奈米裝置，其中該藥物可以是以下任一種：抗癲癇劑、抗腫瘤劑、抗菌劑、抗病毒劑、抗增生劑、抗發炎劑、抗糖尿病劑或是荷爾蒙。

27. 如請求項26所述之奈米裝置，其中該抗發炎劑可以是以下任一種：(corticosteroids)、(ibuprofen)、(methotrexate)、阿思匹靈(aspirin)、水楊酸(salicyclic acid)、二苯氫胺(diphenyhydramine)、人人百炎錠(naproxen)、保泰松(phenylbutazone)、吲哚美辛(indomethacin)或酮基布洛芬(ketoprofen)。

28. 如請求項26所述之奈米裝置，其中該抗病毒劑可以是以下任一種：無環鳥苷(acyclovir)、雷巴威林(ribavirin)、扎那米爾(zanamivir)、奧噻米爾(oseltamivir)、齊多夫錠(zidovudine)或拉脈優錠(lamivudine)。

29. 如請求項26所述之奈米裝置，其中該抗癲癇劑可以是以下任一種：乙醯唑磺胺(acetazolamide)、卡馬西平(carbamazepine)、可洛巴寧(clobazam)、氯硝安定(clonazepam)、寧神平(diazepam)、乙琥胺(ethosuximide)、

乙苯妥因(ethotoin)、非氨酯(felbamate)、磷苯妥因(fosphenytoin)、加巴潘汀(gabapentin)、樂命達(lamotrigine)、左乙拉西坦(levetiracetam)、美芬妥因(mephenytoin)、美沙比妥(metharbital)、甲琥胺(methsuximide)、甲氮醯胺(methazolamide)、除癲達(oxcarbazepine)、苯巴比妥(Phenobarbital)、苯妥因(phenytoin)、苯琥胺(phensuximide)、普瑞巴林(pregabalin)、去氧苯巴比妥(primidone)、丙戊酸鈉(sodium valproate)、司替物醇(stiripentol)、噻加濱(tiagabine)、托吡酯(topiramate)、三甲雙酮(trimethadione)、丙戊酸(valproic acid)、氨己烯酸(vigabatrin)或唑尼沙胺(zonisamide)。

30. 如請求項26所述之奈米裝置，其中該抗增生劑可以是以下任一種：放線菌素(actinomycin)、阿黴素(doxorubicin)、唐黴素(daunorubicin)、戊黴素(valrubicine)、泛達黴素(idarubicin)、表阿黴素(epirubicin)、博來黴素(bleomycin)、光輝黴素(plicamycin)或絲裂黴素(mitomycin)。

31. 如請求項20所述之奈米裝置，其中該抗糖尿病劑可以是以下任一種：磺醯尿素(sulfonylureas)、苯丙胺酸衍生物(meglitinides)、雙胍類(biguanides)、噻唑烷二酮類似物(thiazolidinediones)、α-葡萄糖苷酶抑制劑(alpha-glucosidase inhibitors)或一類胜肽。

32. 如請求項20所述之奈米裝置，其中該磺醯尿素可以是以下任一種：甲苯磺丁脲(tolbutamide)、醋磺己脲(acetohexamide)、妥拉磺脲(tolazamide)、氯磺丙脲(chlorpropamide)、吡磺環己脲(glipizide)、格列本脲(glyburide)、格列美脲(glimepiride)或甲磺吡脲(gliclazide)；該苯丙胺酸衍生物(meglitinides)是瑞格列奈(repaglinide)或那格列萘(nateglinide)；該雙胍類(biguanides)是二甲双胍(metformin)、苯乙双胍(phenformin)或丁双胍(buformin)；該噻唑烷二酮類似物(thiazolidinediones)可以是羅格列酮(rosiglitazone)、皮利酮(pioglitazone)或曲格列酮(troglitazone)；該α-葡萄糖苷酶抑制劑(alpha-glucosidase inhibitors) 是米格列醇(miglitol)或阿卡波糖(acarbose)；該類胜肽(peptide analogs)是艾塞那肽(exenatide)、利拉魯肽(liraglutide)、他司魯肽(taspoglutide)、维格列汀(vildagliptin)、佳糖維(sitagliptin)或普蘭林肽(pramlintide)。

33. 如請求項26所述之奈米裝置，其中該荷爾蒙可以是以下任一種：胰島素、表皮生長因子(epidermal growth factor, EGF)、黃體素、雌激素、腎上腺皮質類固醇或雄性激素。

34. 一種磁性誘發藥物釋出至個體的方法，包含：

(a) 施用一足量之如請求項25所述之奈米裝置至該個

體的一身體部位；和

(b) 以一約 0.05 kA/m 至約 2.5 kA/m 的磁場刺激該身體部位一段約 10 秒至約 180 秒的期間，使得該請求項 25 所述之奈米裝置釋出所包埋的藥物至該個體的該身體部位。

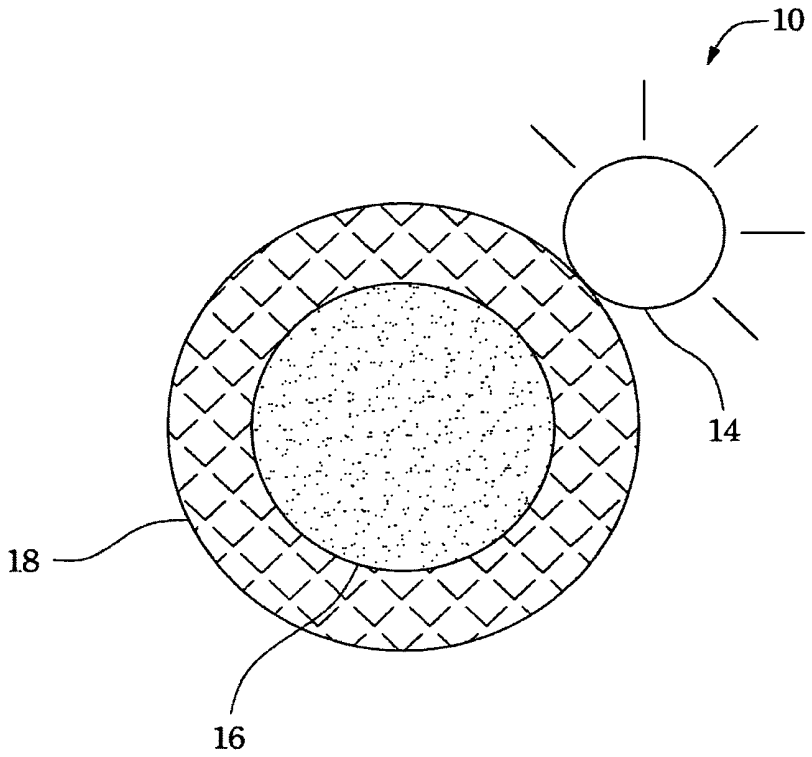
35. 如請求項 34 所述之方法，其中該個體是一人類。

36. 如請求項 34 所述之方法，更包含步驟(c)，在不額外加入一顯影劑的情況下，以一種選自以下的造影技術來追蹤位於該個體之該身體部位內的該奈米裝置，包括：電子自旋共振(ESR)造影、X-光攝影、電腦斷層和核磁共振造影(MRI)。

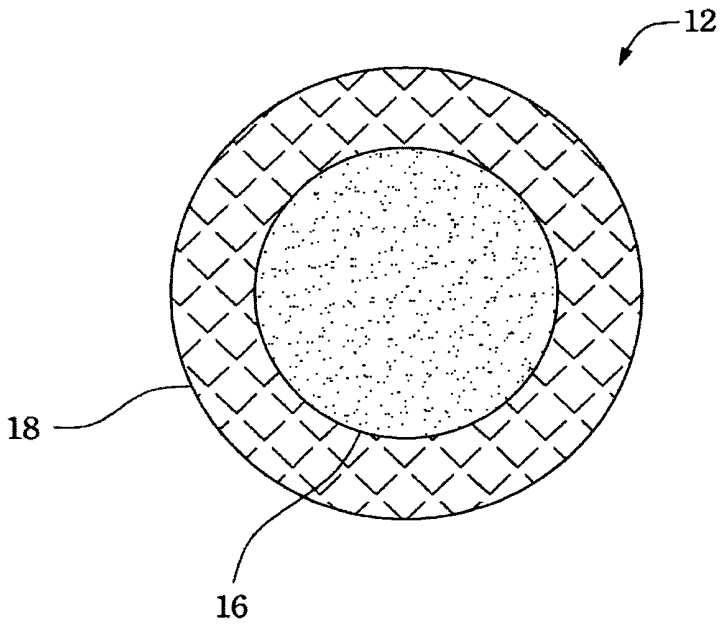
37. 一種在一個體中活體造影的方法，包含：

(a) 施用一足量之如請求項 20 所述之奈米裝置至該個體的一身體部位；和

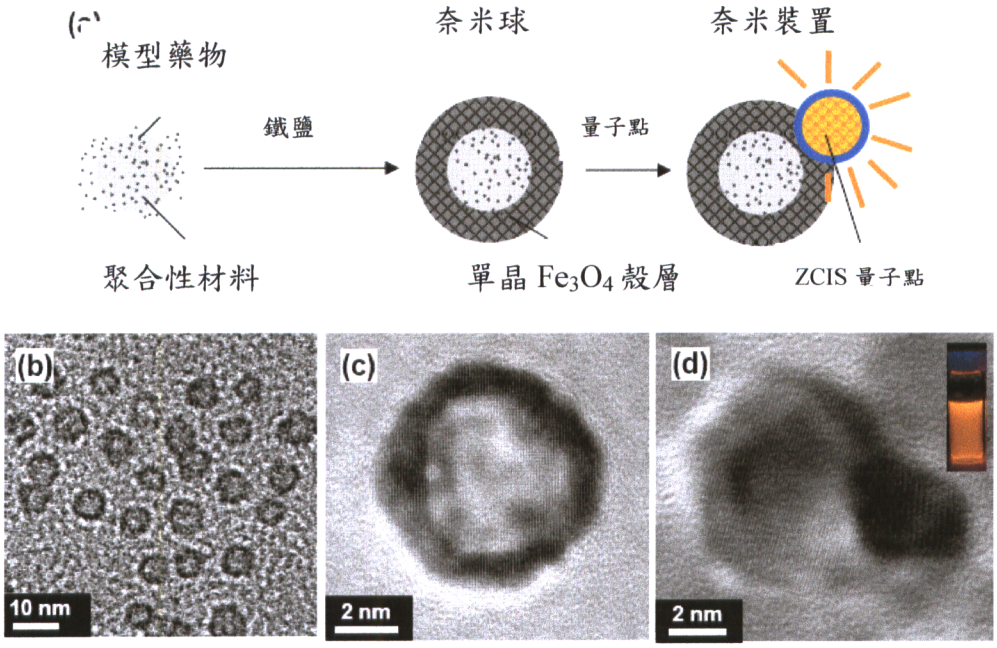
(b) 在不額外加入一顯影劑的情況下，以一種選自以下的造影技術來追蹤位於該個體之該身體部位內的該奈米裝置，包括：電子自旋共振(ESR)造影、X-光攝影、電腦斷層和核磁共振造影(MRI)。



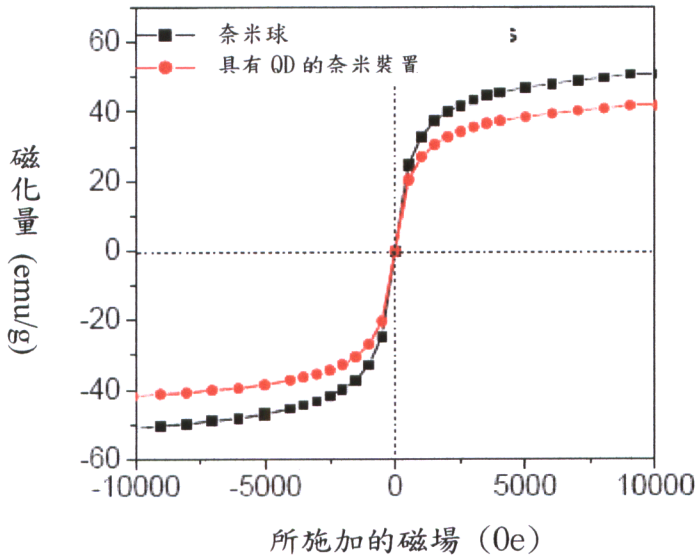
第 1a 圖



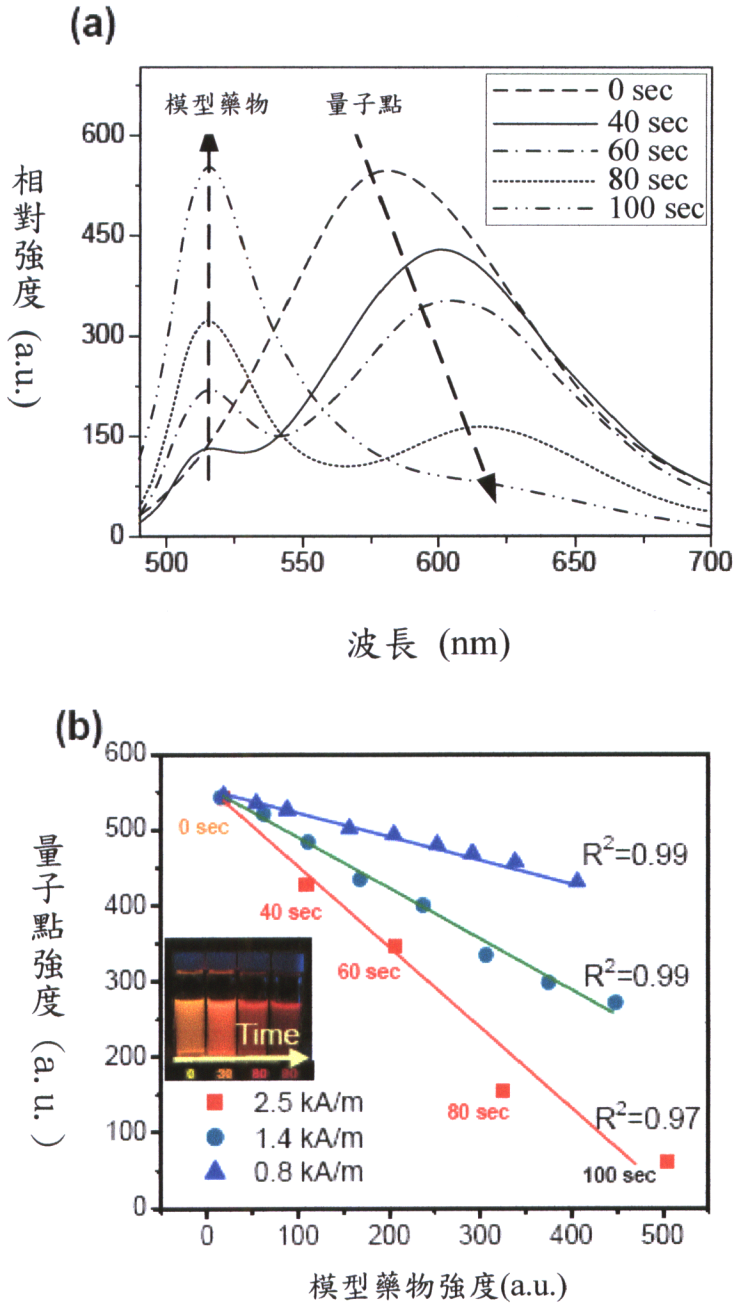
第 1b 圖


(a)
模型藥物
奈米球
奈米裝置
鐵鹽
量子點
聚合性材料
單晶 Fe_3O_4 殼層
ZCIS 量子點
(b)
10 nm
(c)
2 nm
(d)
2 nm

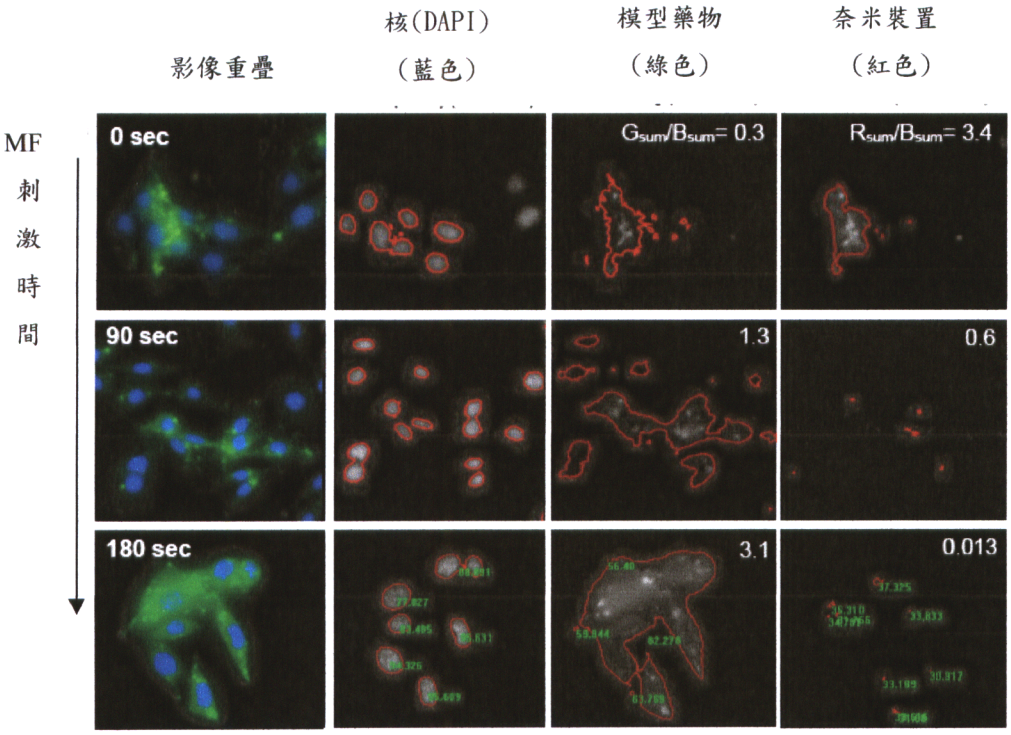
第 2 圖


奈米球
具有 QD 的奈米裝置
磁化量 (emu/g)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-10000
-5000
0
5000
10000
所施加的磁場 (Oe)

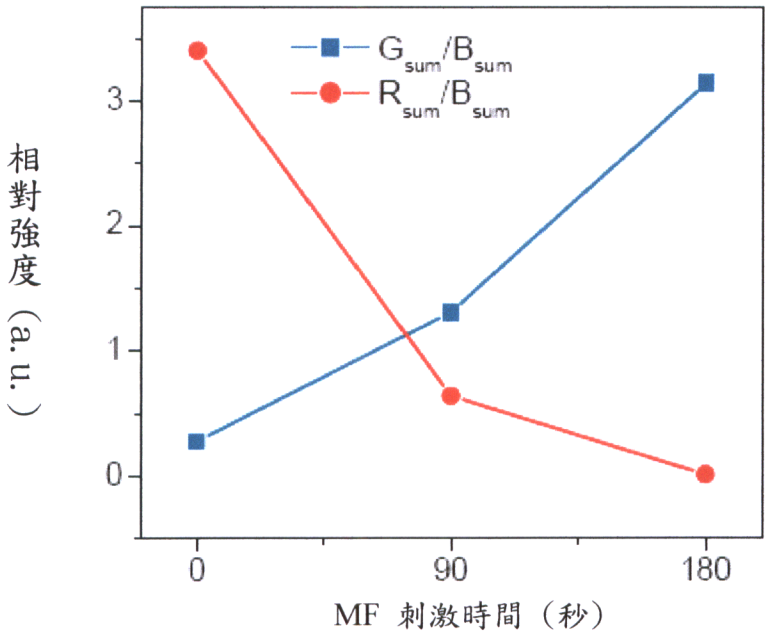
第 3 圖


(a)
模型藥物
量子點
0 sec
40 sec
60 sec
80 sec
100 sec
相對強度 (a.u.)
600
450
300
150
0
500
550
600
650
700
波長 (nm)
(b)
量子點強度 (a. u.)
600
500
400
300
200
100
0
0 sec
40 sec
60 sec
80 sec
100 sec
R²=0.99
R²=0.99
R²=0.97
Time
2.5 kA/m
1.4 kA/m
0.8 kA/m
0
100
200
300
400
500
模型藥物強度(a.u.)

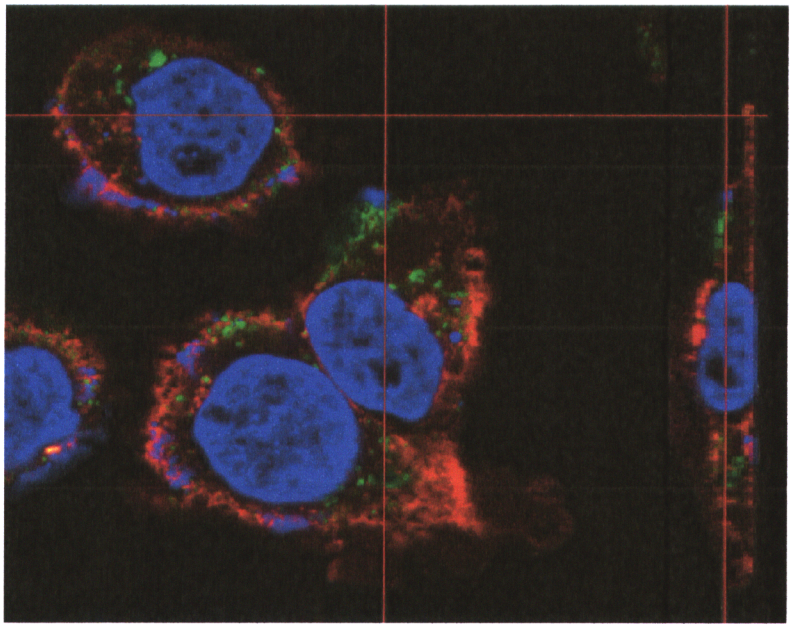
第 4 圖


影像重疊
核(DAPI)
(藍色)
模型藥物
(綠色)
奈米裝置
(紅色)
MF
刺
激
時
間
0 sec
Gsum/Bsum= 0.3
Rsum/Bsum= 3.4
90 sec
1.3
0.6
180 sec
3.1
0.013

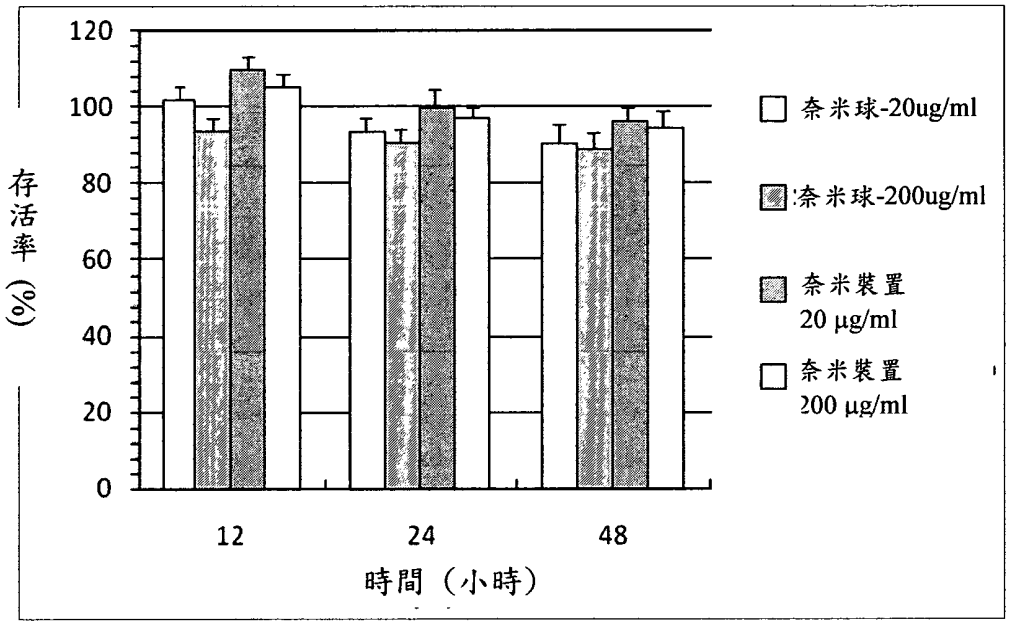
第 5 圖



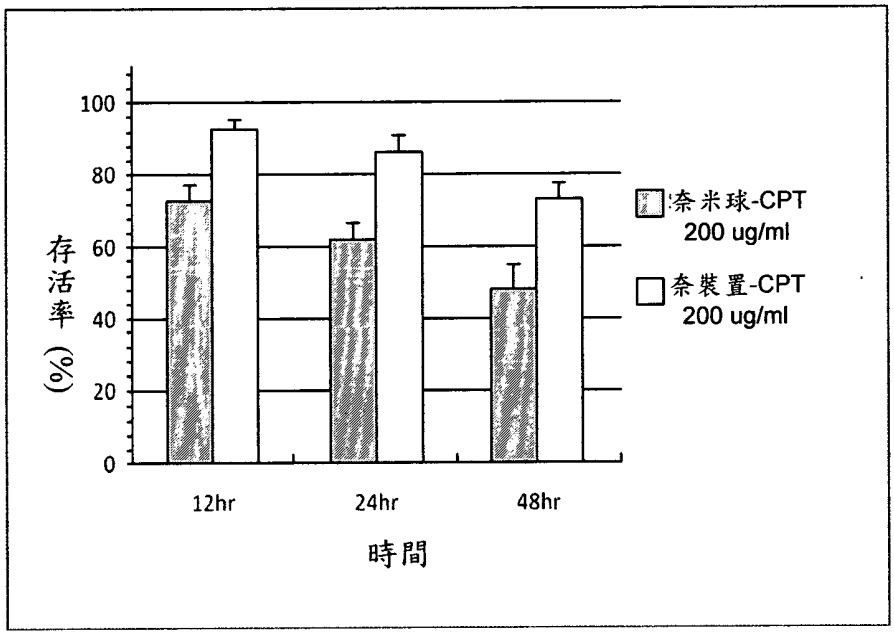
第 6 圖



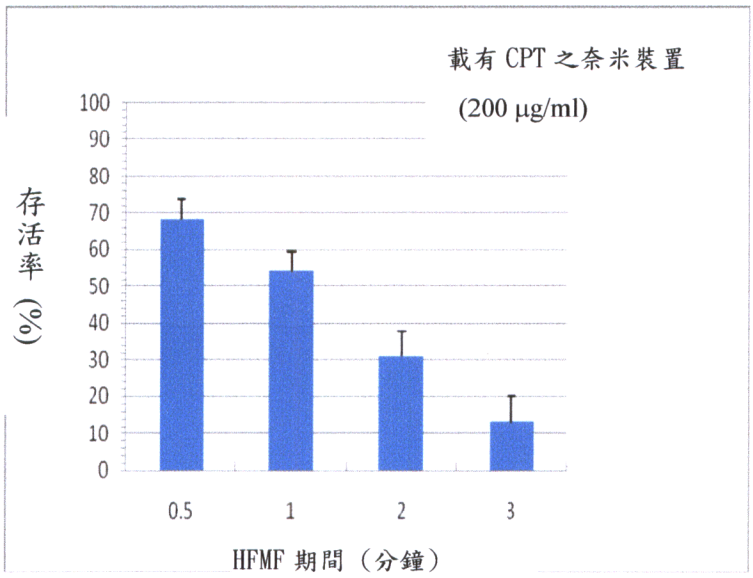
第 7 圖


120
100
80
60
40
20
0
存活率（%）
12
24
48
時間（小時）
奈米球-20ug/ml
奈米球-200ug/ml
奈米裝置
20 μg/ml
奈米裝置
200 μg/ml

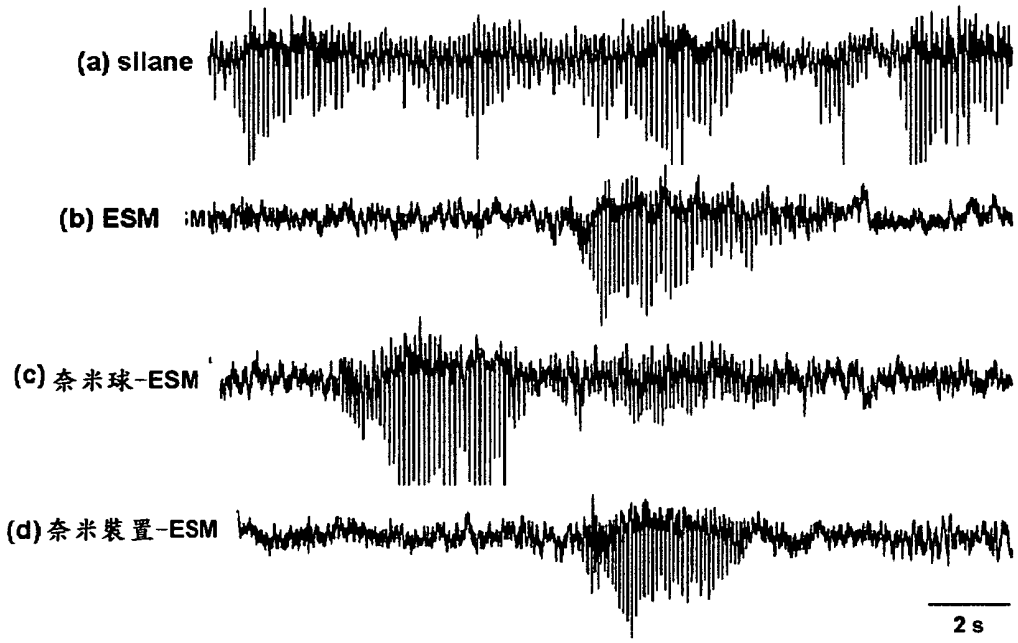
第 8 圖


100
80
60
40
20
0
存活率 (%)
12hr
24hr
48hr
時間
奈米球-CPT 200 ug/ml
奈裝置-CPT 200 ug/ml

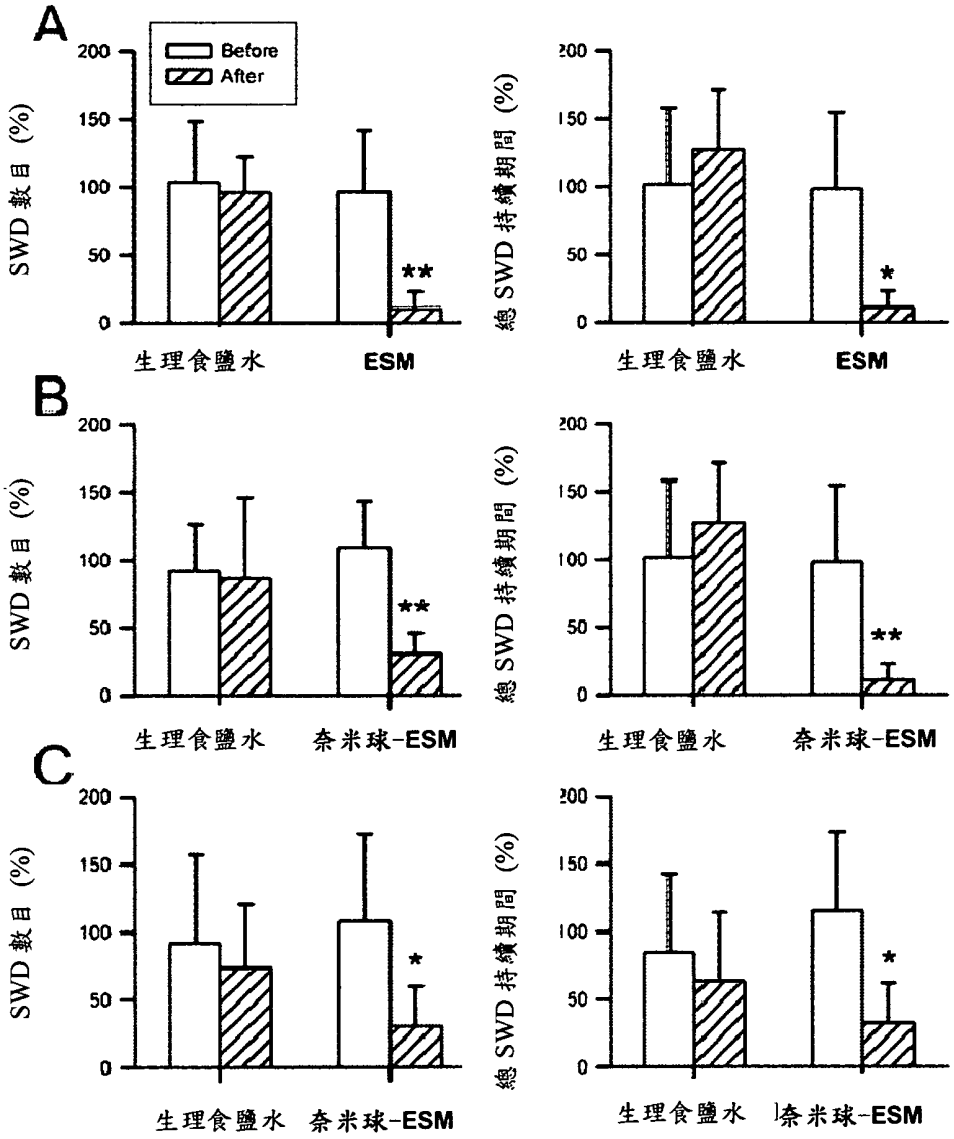
第 9 圖


載有 CPT 之奈米裝置
(200 μg/ml)
存活率 (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.5
1
2
3
HFMF 期間（分鐘）

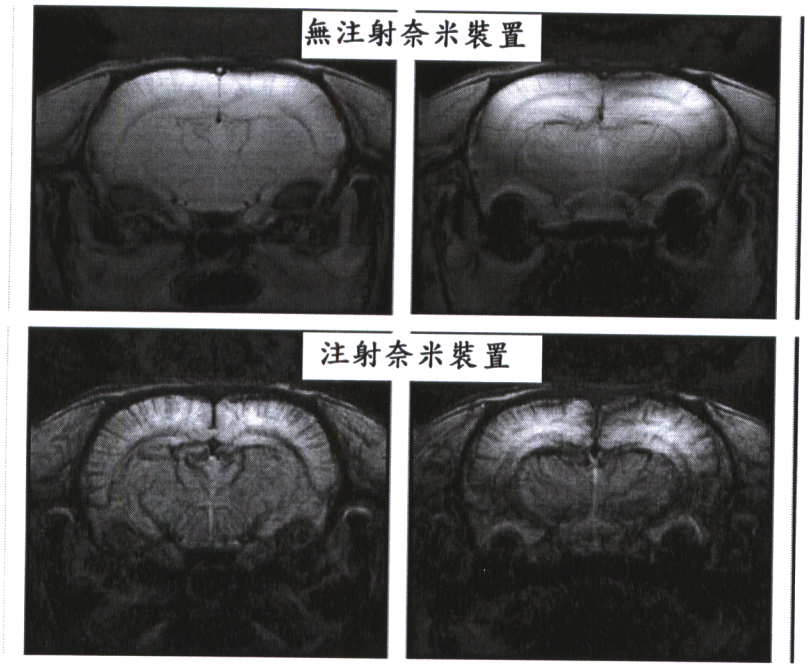
第 10 圖



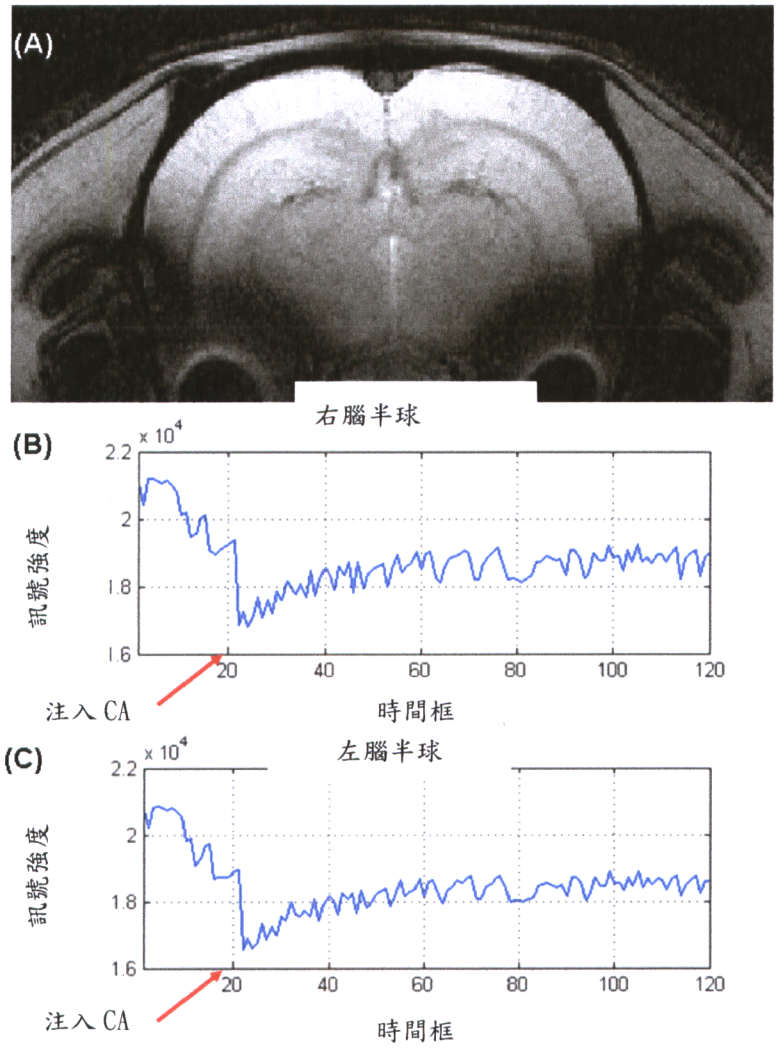
第 11 圖


A
Before
After
SWD 數目 (%)
總 SWD 持續期間 (%)
200
150
100
50
0
**
*
生理食鹽水
ESM
B
奈米球-ESM
C

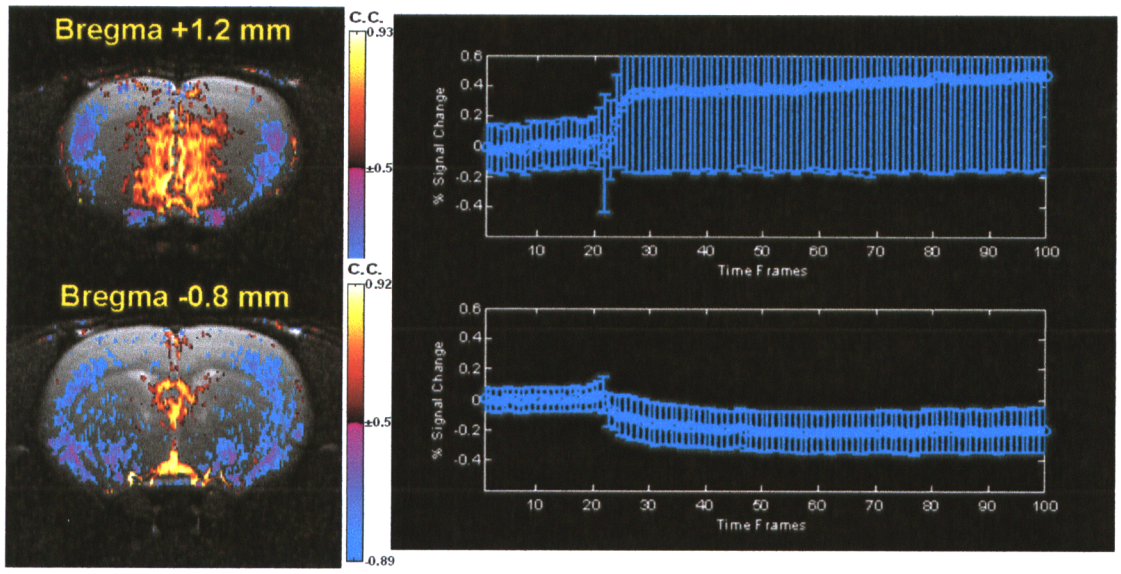
第 12 圖



第 13 圖


(A)
右腦半球
(B)
x 10^4
2.2
2
1.8
1.6
訊號強度
20
40
60
80
100
120
注入 CA
時間框
(C)
左腦半球
x 10^4
2.2
2
1.8
1.6
訊號強度
20
40
60
80
100
120
注入 CA
時間框

第 14 圖


Bregma +1.2 mm
C.C.
0.93
±0.5
Bregma -0.8 mm
C.C.
0.92
±0.5
-0.89
% Signal Change
Time Frames
% Signal Change
Time Frames

第 15 圖