



(21)申請案號：102107954

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 06 日

(51)Int. Cl.：

A61K47/02 (2006.01)

A61K47/04 (2006.01)

A61K47/42 (2006.01)

A61K9/00 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)

(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)；李偉銘 LI, WEI MING (TW)

(74)代理人：蔡清福

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：14 項 圖式數：9 共 28 頁

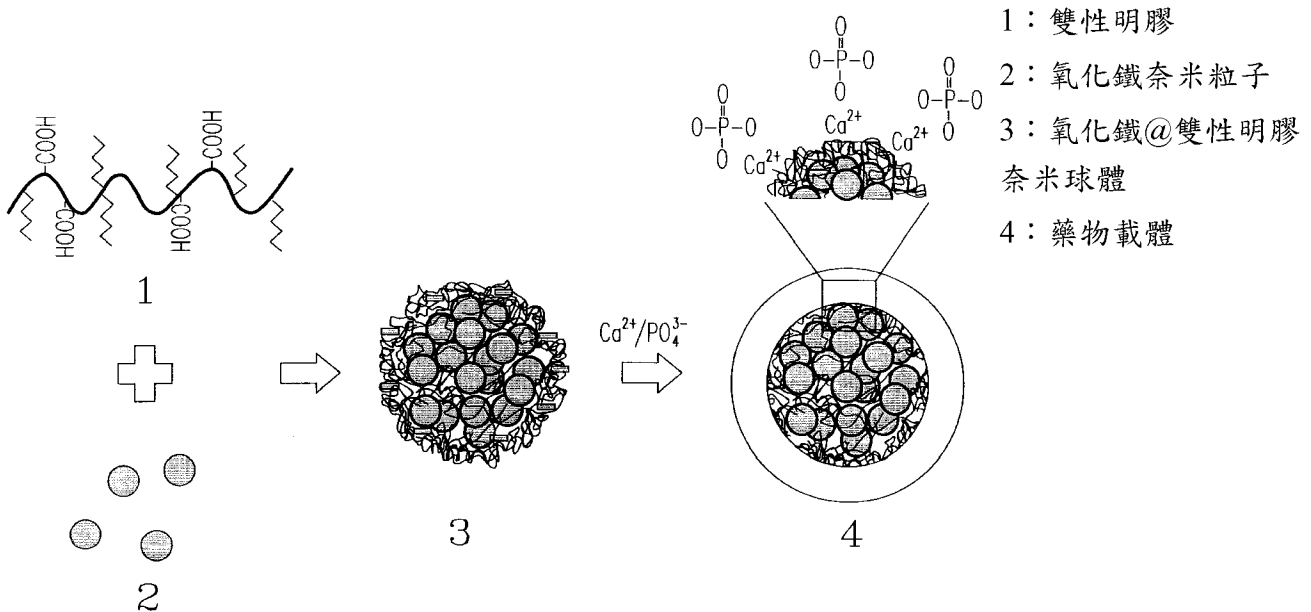
(54)名稱

奈米粒子藥物載體、藥物組合物及其製造方法

NANOPARTICLE DRUG CARRIER, PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

(57)摘要

一種藥物組合物，包括奈米粒子、外殼及藥物，其中該奈米粒子具一外表面，該藥物與該外殼混合，並形成於該外表面上。



第一圖

發明摘要

※ 申請案號：102107954

※ 申請日：102. 3. 06

※IPC 分類：A61K47/42 (2006.01)
A61K47/44 (2006.01)
A61K47/42 (2006.01)
A61K9/00 (2006.01)
B82Y5/00 (2011.01)

【發明名稱】(中文/英文)

奈米粒子藥物載體、藥物組合物及其製造方法/ Nanoparticle drug carrier, pharmaceutical composition and manufacturing method thereof

【中文】

一種藥物組合物，包括奈米粒子、外殼及藥物，其中該奈米粒子具一外表面，該藥物與該外殼混合，並形成於該外表面上。

【英文】

A pharmaceutical composition is provided. The pharmaceutical composition includes a nanoparticle, a shell and a drug, wherein the nanoparticle has an outer surface and the drug is mixed with the shell to form a mixture on the outer surface.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 一 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

- 1 雙性明膠
- 2 氧化鐵奈米粒子
- 3 氧化鐵@雙性明膠奈米球體
- 4 藥物載體

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

奈米粒子藥物載體、藥物組合物及其製造方法/ Nanoparticle drug carrier, pharmaceutical composition and manufacturing method thereof

【技術領域】

【0001】 本案係關於一種奈米粒子藥物載體，尤其係關於一種包含雙性奈米粒子及氫氧基磷灰石外殼之藥物載體，可用於控制藥物之釋放。

【先前技術】

【0002】 近年來奈米材料及奈米技術早已成爲各國研究發展之重點。奈米材料通常指尺寸大小約 1~100 nm 的物質，近代生物醫學之發展通常結合奈米科學，將藥物治療，基因治療從實驗室之體外實驗邁向細胞層級、分子生物層級，而應用至生物體內 (*in vivo*)。考慮到在生物體內使用的安全性，用來包覆藥物之奈米粒子，必須具備無生物毒性、水溶性以及生物相容性等條件。

【0003】 長久以來，由於磷酸鈣(Calcium phosphate)爲生成骨骼的材料，其已被視爲一種具有高度生物相容性及生物活性的物質，也因此常被利用在生物醫學上。磷酸鈣能夠結合並包裹藥物或核酸，當包裹藥物的磷酸鈣進入細胞時，能保護藥物不受酵素降解。由於這些優點，磷酸鈣被使用作爲藥物載體的外殼，使包裹於核心的藥物傳遞至標的細胞中。

【0004】 Yurong C.等人利用界面活性劑形成微胞包覆藥物，然後將氫氧基磷灰石沉積於微胞表面，形成奈米殼層，並利用超音波震盪的方式使殼層瓦解而釋放出藥物 (*Chem Mat.*

2007;19(13):3081-3083)。Rim HP 等人以孔洞型二氧化矽奈米球體攜帶藥物分子，再利用氫氧基磷灰石作為殼層覆蓋於二氧化矽奈米球體表面形成藥物載體。氫氧基磷灰石外殼的存在是為了避免藥物從二氧化矽奈米球體的孔洞滲出，提供一種控制釋放的效果 (*Angewandte Chemie-International Edition*. 2011;50:8853-8857)。

【0005】 磷酸鈣在作為奈米粒子藥物載體的應用上，仍存在一些重要的問題，例如(1)藥物載體之核心(即奈米粒子)需先吸附藥物完畢，再進行氫氧基磷灰石(成分為磷酸鈣)包覆，此過程中很容易出現漏藥現象，造成藥物包覆率低。(2) 由於目前發展之藥物載體是將氫氧基磷灰石奈米快速沉積於藥物載體的表面上，難以加入氧化鐵奈米粒子或功能性奈米粒子，造成載體使用性有所限制。(3) 置於奈米粒子之中的藥物分子，雖可以利用其他作用如自然擴散而被釋放，但無法達到控制藥物釋放及釋放量操控的效果。因此亟需開發出一種具有功能性的藥物載體，除了能夠控制釋放藥物並同步監測藥物載體的位置。

【0006】 有鑑於此，本發明發展出一種藥物組合物，其以氧化鐵@雙性明膠奈米球體作為核心，並利用具有酸鹼敏感特性之氫氧基磷灰石包覆於表面形成殼層，製作出氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石之核殼奈米結構，並在形成氫氧基磷灰石殼層的同時加入藥物分子，將藥物分子完美的包覆於殼層當中，完成該藥物組合物。

【發明內容】

【0007】 在本發明提供的藥物載體中，包括核心與氫氧基磷灰石外殼，核心中包括磁性材料及包裹磁性材料的親/疏水雙性明膠，氫氧基磷灰石外殼被配置於核心外圍並用於儲存一水溶性藥物。

【0008】 另一方面，本發明也提供一種藥物組合物，包括具有一外表面的奈米粒子、外殼及藥物，該藥物與該外殼混合，並形成於該奈米粒子的外表面上。

【0009】 除此之外，本發明還提供一種製造一藥物組合物的方法，包括提供一奈米粒子，其具一外表面；提供一外殼材料；提供一藥物，使該藥物與該外殼材料混合，以形成一混合物；以及使該混合物吸附於該外表面。

【0010】 本發明利用材料特性與藥物的結合，設計與製備一種具多功能性的藥物載體，除了具有控制釋放藥物的效果並能同步監測藥物載體的位置。此藥物載體於中性或者鹼性溶液下，可維持良好的結構穩定性，而在偏酸的環境下，藉由溶解此藥物載體的氫氧基磷灰石殼層，來控制藥物的局部釋放，如此可將大量的抗癌藥物累積於腫瘤位置，以達到腫瘤治療的效果。同時，本發明提供的製備方法，將傳統需要兩個階段完成的步驟—載藥 (drug loading) 及形成外殼，改良為在一個步驟中同時完成，比目前的習知技術更具有優勢。

【圖式簡單說明】

【0011】 第一圖為本發明藥物載體的製備流程圖。

【0012】 第二圖為根據本發明製備方法而製備的藥物載體之穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope, TEM) 影像。

【0013】 第三圖為本發明藥物載體的傅立葉紅外光譜圖。

【0014】 第四圖為本發明藥物載體的超導量子干涉儀測量結果。

【0015】 第五圖為本發明藥物載體的核磁共振顯影結果。

【0016】 第六圖(A)為本發明藥物載體包覆一種藥物的製備流程圖。

【0017】 第六圖(B)為本發明藥物載體包覆兩種藥物的製備流程圖。

【0018】 第七圖為本發明藥物載體包覆藥物後在不同酸性程度下的藥物釋放行為。

【0019】 第八圖為氧化鐵@雙性明膠奈米球體及本發明雙性明膠/氧化鐵/氫氧基磷灰石核殼奈米載體對海拉(HeLa)細胞的毒性測試。

【0020】 第九圖(A) 顯示本發明藥物載體包覆兩種藥物時，在不同酸性程度下疏水性藥物 Taxol 的釋放率。

【0021】 第九圖(B) 顯示本發明藥物載體包覆兩種藥物時，在不同酸性程度下親水性藥物 DOX 的釋放率。

【實施方式】

【0022】 本發明提供一種藥物載體，該藥物載體具有核-殼之基本架構，其中核心包括磁性材料及包裹磁性材料的親/疏水雙性明膠，而殼的材質為氫氧基磷灰石，被配置於核心外圍並用於儲存一水溶性藥物。藥物載體中的磁性材料的存在兼具磁引導及磁顯影等效果，可使本發明的藥物載體應用於腫瘤或其他組織的追蹤。在本發明的實施例中，由於氧化鐵具有優越的磁敏感性與超順磁的特性，磁性材料較佳為四氧化三鐵(Fe_3O_4)。本發明藥物載體中所使用的親/疏水雙性明膠經己酸酐高分子改質，在包覆磁性材料的過程當中，疏水性的磁性材料會被包覆在雙性明膠內部之疏水性層，使雙性明膠的羧基顯露出來，令其球體表面具有負電性，具有良好分散特性。在本發明中，雙性明膠高分子明膠的分子量(molecular weight)為 87,000 至 100,000 (g/mol)，能夠以 0.01 ug/ml 到 1000 mg/ml 等不同的濃度分散溶解在各種溶液中，各種溶劑可為水溶液、有機溶劑或任何的混合溶液。本發明中氧化鐵@雙性

明膠球體之大小可由 50 nm 至 300 nm，且氧化鐵奈米粒子大小可由 5 nm 至 20 nm。

【0023】 本發明中藥物載體的核心為一具有親/疏水雙性的球體，為氫氧基磷灰石外殼之結合提供一吸引力，使氫氧基磷灰石能吸附於核心外圍。形成藥物載體後，其尺寸介於 100 nm 至 400 nm 之間，殼層厚度介於 5 nm 到 100 nm 之間，因此本發明的藥物載體可應用於活體內，例如哺乳動物體內，控制藥物在體內的局部釋放，而達到局部治療腫瘤的效果。

【0024】 本發明的藥物載體與習知技術的差別在於利用氫氧基磷灰石外殼包覆親/疏水雙性奈米粒子，並同時將藥物儲存於外殼中。此種形成藥物載體的方式與傳統將藥物包裹於核心的技術相比，能避免漏藥現象。此外，本發明的藥物載體具有良好的酸鹼敏感特性，可利用環境酸鹼值的不同，迅速且精準的釋放大量藥物；在外在環境呈現中性或鹼性時，藥物載體可持續將藥物良好包覆於殼層內，避免藥物自然釋放，此項優越特性對於藥物釋放的控制有極大助益。然而當外在環境轉變成酸性情況，則由於氫氧基磷灰石的瓦解因此將藥物分子釋放出來，而且當酸性程度越高則使得氫氧基磷灰石瓦解速度越快，導致藥物釋放速度亦增加。由此可見，本發明藥物載體中的氫氧基磷灰石外殼不只是作為儲存藥物之用，更能依據酸鹼值控制藥物的釋放速度。

【0025】 第一圖為本發明藥物載體的製備流程圖。如圖所示，蛋白質高分子明膠經由疏水性反應官能基(本發明中為已醯基)改質後為具有親/疏水雙重性質的雙性明膠 1，與氧化鐵奈米粒子 2 混合後形成氧化鐵@雙性明膠奈米球體 3，將氧化鐵奈米粒子包覆在雙性明膠內部疏水性層，而使羧基基團外露。將氧化鐵@雙性明膠奈米球體與含有鈣離子及磷酸根離子的水溶液混合，可在氧

化鐵@雙性明膠奈米球體外表面形成氫氧基磷灰石殼層，成爲本發明之藥物載體 4-氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼結構。

【0026】 以下將詳細說明本發明藥物載體的製備實施例

【0027】 氧化鐵@雙性明膠奈米球體(AGIO)的製備

【0028】 明膠 (type A) 1.5 g 於 100 ml 的反應瓶中，內置一磁石並且添加 20 ml 純水與 0.1N 1 ml 氫氧化鈉，在 60°C 下攪拌 4 小時使之溶解完全，再加入 20 ml 乙醇混合均勻後，便可分別加入不同濃度的己酸酐於 60°C 下攪拌 5 小時，完成不同接枝率之親/疏水雙性明膠高分子(如表一)，其接枝率可由 0% 到 100%。

表一

樣品	己酸酐 (M)	臨界聚集濃 度 (CAC) ($\times 10^{-3}$ mg/ml)	表面電位 (mV)	轉化率 (%)	平均大小 (nm)
GM1	0.2	10 \pm 0.38	-9.3 \pm 1.3	49.6 \pm 4.2	58.4 \pm 8.8
GM2	0.4	7.08 \pm 0.36	-15.5 \pm 1.8	68.6 \pm 5.5	80.2 \pm 8.2
GM3	0.6	3.16 \pm 0.42	-24.4 \pm 2.0	85.8 \pm 4.7	175.3 \pm 7.4
GM4	0.8	2.16 \pm 0.35	-28.2 \pm 2.5	97.7 \pm 2.2	285.2 \pm 12.8

【0029】 將雙性明膠分子(amphiphilic gelatin) 0.1 mg 溶於 2 ml 水溶液當中，另外將油相氧化鐵奈米粒子溶於 0.5 ml 氯仿(CHCl₃)中，將氧化鐵溶液與 2 ml 雙性明膠分子水溶液均勻混和，利用超音波打碎機使溶液乳化，並且溶液會慢慢轉變爲淺褐色，使用超音波打碎機 1 分鐘後，將溶液放於加熱板上，加熱至 60°C，將有機相溶劑(CHCl₃)揮發完畢後，混和溶液由淺褐色轉變成黑色溶液後，以離心的方式收集沉澱物並利用去離子水清洗數次，最後回

溶於去離水當中保存，即可得氧化鐵@雙性明膠奈米球體結構。

【0030】 第二圖為根據本發明製備方法而製備的藥物載體之穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope, TEM) 影像。利用穿透式電子顯微鏡可以明顯觀察到氧化鐵奈米粒子的確被雙性明膠分子所包覆而形成氧化鐵奈米球體。圖中觀察到氧化鐵奈米粒子的粒徑大小大約是 4.8 nm，而氧化鐵@雙性明膠奈米球體粒徑大小大約是 80 nm，此外利用粒徑統計分析儀測量雙性明膠/氧化鐵奈米球體可以發現其粒徑分佈非常集中，代表此方法所製備的奈米粒子大小是非常的一致。此外利用不同接枝率之雙性明膠分子包覆油相氧化鐵奈米粒子可以得到不同大小之氧化鐵@雙性明膠奈米球體粒子，如表一所示。

【0031】 氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼結構 (AGIO@CaP) 的製備

【0032】 取 5 ml 的去離子水並加入 60 μ L 的 0.1 M $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 及 100 μ L 的 0.1 M NaOH (pH 10)，另外取 2 mg 的雙性明膠/氧化鐵奈米球體與 100 μ L 的 0.1 M CaCl_2 混和完畢後，再逐滴加入上述含有磷酸根水溶液當中，攪拌反應 30 分鐘後，利用離心的方法收集白色沉澱物並且以緩衝溶液 (pH 7.4) 清洗數次，再將以收集好的沉澱物溶於緩衝溶液 (pH 7.4) 當中，即得氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼奈米載體。

【0033】 根據發明實施例，製備氫氧基磷灰石外殼之鈣離子及磷酸根離子分別是由 CaCl_2 及 $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 所提供，本領域具通常知識者應可將這些溶液置換成其他可提供鈣離子及磷酸根離子的溶液。

【0034】 本發明所發展出的藥物載體，利用穿透式電子顯微鏡觀察，顯示氫氧基磷灰石殼層成功的包覆於氧化鐵奈米球體表

面上，並且具有良好的分散性質，其大小約為 120 nm，而利用高解析穿透式電子顯微鏡分析氫氧基磷灰石的結構，無法觀察到晶格的出現，所以合成出的氫氧基磷灰石是屬於非結晶性的結構。

【0035】 在結構鑑定方面，利用傅立葉紅外光光譜儀及元素分析儀分析氫氧基磷灰石的結構及成分，由第三圖可見在 680 cm^{-1} 出現的吸收峰為氧化鐵的特徵峰，而 608 及 1043 cm^{-1} 則為氫氧基磷灰石內部磷酸根的特徵峰，而由元素分析儀所得鈣磷比為 1.5，表示為非晶性氫氧基磷灰石(amorphous calcium phosphate, ACP)。藉由超導量子干涉儀 (Superconducting quantum interference device, SQUID)測量探討本發明藥物載體之磁敏感特性，如第四圖所示，雙性明膠/氧化鐵/氫氧基磷灰石奈米核殼藥物載體具有良好的超順磁性和磁敏感特性，即使是包覆藥物後載體(AGIO@CaP-DOX)仍然保有很好的磁敏感特性。第五圖為本發明藥物載體的核磁共振顯影結果，如圖中所示，本發明藥物載體的核磁共振自旋-自旋弛緩速率為 $109\text{ s}^{-1}\text{ mM}^{-1}\text{ Fe}$ ，證明具有核磁共振顯影的特性。

【0036】 根據本發明的構想，在藥物載體形成的過程中加入藥物，可將藥物混合於氫氧基磷灰石外殼中，共同形成於奈米粒子的外表面上，而成為一種藥物組合物。由於本發明中雙性奈米粒子的外表面為親水性，其帶有負電，由於電性相吸的因素，鈣離子會吸附在雙性奈米粒子的外表面，磷酸根隨後沉積上去，而帶有正電的水溶性藥物與氫氧基磷灰石混合並共同吸附於雙性奈米粒子的外表面上，形成其中儲存有藥物的氫氧基磷灰石殼層。

【0037】 本發明包覆藥物的方式是以共沉澱方式合成氫氧基磷灰石的同時加入藥物分子，在氫氧基磷灰石殼層形成的過程將藥物分子包覆在殼層當中。本發明所發展出的氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼藥物載體，具有良好的酸鹼敏感特性，可

利用環境酸鹼值的不同，迅速且精準的釋放藥物；在外在環境呈現中性或鹼性時，藥物載體可持續將藥物良好包覆於殼層內，此項優越特性對於長時間藥物控制有極大助益。一般來說人體呈現的酸鹼值通常為偏中性，但在腫瘤周圍的環境會有酸化的現象，由於氫氧基磷灰石具有酸鹼敏感的性质，當受到外在環境酸鹼值不同會影響氫氧基磷灰石奈米殼層的溶解速度，當環境酸性越明顯，則氫氧基磷灰石溶解速度越快，因此可控制藥物的釋放速度。

【0038】 請參閱第六圖(A)及第六圖(B)，本發明提出兩種包覆藥物的方案。第六圖(A)為本發明包覆藥物的第一方案，首先完成氧化鐵@雙性明膠奈米球體的製備，若不加入藥物，則以氫氧基磷灰石做為外殼材料，沉積於氧化鐵@雙性明膠奈米球體的外表面，然後成為氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼結構。若在形成氫氧基磷灰石外殼的同時加入一藥物 60，則該藥物 60 與氫氧基磷灰石混合，形成一混合物，共同吸附於氧化鐵@雙性明膠奈米球體的外表面上。在本發明中，氧化鐵@雙性明膠奈米球體的外表面與藥物 60 及氫氧基磷灰石之混合物極性相反，因此能經由一靜電作用力而互相結合。根據本發明實施例，該藥物較佳為一水溶性藥物，例如阿黴素(Doxorubicin)及其衍生物至少其中之一。

【0039】 根據本發明一實施例，氧化鐵@雙性明膠奈米球體的外表面帶負電。如第六圖(A)所示，由於羧基基團與鈣離子之間的靜電作用力，游離的鈣離子吸附在核心周圍，使氫氧基磷灰石在核心外形成一薄層。當反應持續進行，則形成較厚的外殼。當藥物與氫氧基磷灰石同時沉積於核心上時，帶正電的藥物與鈣離子同時與核心上的帶負電的羧基基團作用，形成氫氧基磷灰石與藥物混合的外殼。

【0040】 第六圖(B)為本發明包覆藥物的第二方案，在形成氧化鐵@雙性明膠奈米球體時 64，使雙性明膠 61、氧化鐵奈米粒子 62 與第一藥物 63 混合，使第一藥物 63 包裹於氧化鐵@雙性明膠奈米球體 64 中。然後，依本發明上述製備流程形成氫氧基磷灰石外殼，同時加入第二藥物 65，使第二藥物 65 與氫氧基磷灰石混合，共同吸附於氧化鐵@雙性明膠奈米球體 64 的外表面上形成藥物組合物 66。在本發明中，第一藥物 63 與第二藥物 65 具有不同極性，例如第一藥物 63 為脂溶性而第二藥物 65 為水溶性。根據本發明實施例，該第一藥物選自紫杉醇(Taxol)、紫杉醇衍生物、喜樹鹼(Camptothecin)及喜樹鹼衍生物所組成群組的至少其中之一。

【0041】 根據第六圖(A)及第六圖(B)所描繪的實施方式，本發明藥物載體的核心包括雙性明膠與氧化鐵奈米粒子，其中氧化鐵奈米粒子的存在使藥物載體具有磁引導及磁顯影等效果。然而，本領域具通常知識者應可理解，氧化鐵奈米粒子可以是其他合適的疏水性分子，且本發明包覆藥物的方式也適用於不包含氧化鐵奈米粒子的情況，例如，以雙性明膠包裹脂溶性藥物並將水溶性藥物與外殼混合的情況。

【0042】 本發明上述製備方法中使用的各種特定藥物 (如 Doxorubicin、Taxol、Camptothecin 等)與溶液僅為提供示例實施方式，不用於限定本發明的範圍。舉例來說，本領域具通常知識者應可理解上述實施例中使用的 Doxorubicin 亦可為其衍生物。此外，本文中使用的術語 “藥物” 包括但不限於臨床使用的藥物，亦可以使用其他具有活性的分子來作為藥物載體的釋放物質。

【0043】 Doxorubicin (DOX) 抗癌藥物包覆測試

【0044】 將 1 mg 的藥物分子與 2 mg 的氧化鐵@雙性明膠奈米球體與 100 μ L 的 0.1 M CaCl₂ 混和後，再逐滴加入上述含有磷酸根

的水溶液當中。混和攪拌 1 小時後，使藥物分子包埋在氫氧基磷灰石所形成的殼層當中，最後利用緩衝溶液(pH 7.4)清洗數次，即得本發明之藥物組合物。

【0045】 本發明包覆藥物後的藥物載體，利用穿透式電子顯微鏡觀察，顯示氫氧基磷灰石殼層成功的包覆於氧化鐵@雙性明膠奈米球體表面上，並且具有良好的分散性質，其大小約為 160 nm，此外可發現當藥物分子的出現會影響氫氧基磷灰石的沉積結構。若無藥物分子的出現，則氫氧基磷灰石則可以完整且連續沉積於氧化鐵@雙性明膠奈米球體表面，形成完整的薄殼，但當加入藥物分子時，則氫氧基磷灰石與藥物共沉澱同時將藥物分子包覆在殼層中，因此在反應初期會在氧化鐵@雙性明膠奈米球體外圍先形成小顆粒狀的聚集，而再隨著反應時間的增加，殼層的厚度同時增厚。

【0046】 此外，加入不同劑量之 CaCl_2 與 $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 可使得藥物載體的氫氧基磷灰石殼層具有不同的厚度，因此其包藥率亦隨殼層增厚而增加，如同表二所示。本發明在製備具有酸鹼敏感性之藥物載體，利用奈米材料的製程技術，來控制藥物載體結構使其呈現具有最佳特性的程度。

表二

樣品	CaCl_2 (0.1 M)	$(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ (0.1 M)	藥物載體平 均大小 (nm)	殼層厚度 (nm)	包藥率 (EE%)
1	50	30	100±10	10±5	19
2	100	60	160±17	40±8	38
3	200	120	270±15	100±12	43
4	300	180	380±20	150±10	54

【0047】 一般藥物載體，在於外界環境未驅動的狀態下，會

有自然的擴散現象，此情況對於需要長期植入人體的藥物系統較不理想。本發明藥物載體利用共沉澱合成方式同時包覆氫氧基磷灰石及藥物分子，可以將藥物分子大量包覆並儲存於殼層中，在未加刺激的狀態下可以幾乎達到”零釋放”(zero-release)的需求。此外，此製程為室溫下即可合成，不會對於藥物活性造成破壞。

【0048】 第七圖為本發明藥物載體包覆藥物後在不同酸性程度下的藥物釋放行為。由於 DOX 本身於紫外光-可見光譜的 490 nm 處會有最大值的吸收峰，因此利用此吸收值可推算 DOX 藥物釋放的濃度，並且利用 DOX 本身具有紅色螢光性質，可以利用螢光顯微鏡觀察藥物載體的螢光變化。如第七圖所示，在中性(pH 7.4)的環境下，未破壞的氫氧基磷灰石殼層持續包覆著載體表面，可防止藥物分子釋放出來，因此藥物分子可以被完善的包覆於奈米載體當中。然而，在酸性環境下，藥物分子的吸收峰明顯的出現吸收值，表示藥物載體在不同酸鹼值變化下，可具有不同的釋放速度，這是由於外在環境的酸鹼值變化，會造成氧化鐵@雙性明膠/氫氧基磷灰石奈米核殼藥物載體的氫氧基磷灰石殼層因受酸性破壞造成殼層毀損而將藥物釋放出來，並且明顯地觀察到當酸性程度越高時，則氫氧基磷灰石瓦解的速度越快，而藥物分子由殼層中釋放出來的速度亦加快。

【0049】 爲了進一步了解氫氧基磷灰石殼層的變化，由穿透式電子顯微鏡分析更能確實看到，經由酸性的刺激，外圍的氫氧基磷灰石殼層被破壞之情形以及在不同的酸性程度下所造成的不同破壞情形。在 pH 5.5 的環境下，氫氧基磷灰石殼層在反應 2 小時後，可明顯觀察到殼層厚度變薄許多且表面出現酸性侵蝕痕跡，然而在經過 8 小時後氫氧基磷灰石殼層完全消失，而裸露出氧化鐵@雙性明膠奈米球體。然而，在 pH 6.5 環境下，氫氧基磷

灰石殼層受酸性侵蝕的程度明顯較為緩和，其殼層保留較為明顯且殼層厚度較大，而在反應 8 小時後，仍可觀察到破碎程度較高的氫氧基磷灰石殼層存在於外圍，此結果說明在不同酸性程度下，其氫氧基磷灰石具有不同的瓦解速度。

【0050】 在細胞行為研究中，選用海拉(HeLa)細胞作為研究對象，利用海拉(HeLa)細胞作為藥物載體的毒性測試及體外藥物釋放行為研究，由第八圖的毒性測試得知，當氫氧基磷灰石包覆於氧化鐵@雙性明膠奈米球體表面時，由於氫氧基磷灰石具有高生物相容性，能有效的降低載體在細胞內所造成的毒性。藉由溶酶體螢光染料 (lysotracker) 的追蹤得知藥物載體是經由核內體(endosome)進入細胞當中，由於核內體當中呈現酸性，使得具有酸鹼敏感性的藥物載體開始造成氫氧基磷灰石的破壞，而進一步將藥物分子釋放到細胞當中。由於該載體所攜帶之抗癌藥物 Doxorubicin (DOX) 主要進入細胞核當中作用，藥物載體與細胞作用 4 小時後，可以觀察到細胞核尚無變化，然而當作用時間增加到 8 小時後，則因氫氧基磷灰石的溶解造成藥物釋放，使 DOX 進入到細胞核進而累積濃度而發出紅色螢光。

【0051】 紫杉醇(Taxol)及 Doxorubicin (DOX) 藥物包覆測試

【0052】 將雙性明膠與疏水性氧化鐵及疏水性藥物(紫杉醇(Taxol))油水乳化後，形成包覆藥物的奈米球體，再利用共沉澱法的方式將氫氧基磷灰石包覆於球體外層形成殼層，同時利用氫氧基磷灰石形成的過程中將親水性藥物 DOX 包覆於殼層當中，最終完成本發明包覆兩種藥物的藥物組合物。

【0053】 第九圖(A)及第九圖(B)為本發明藥物載體包覆兩種藥物後在不同酸性程度下的藥物釋放行為，其中第九圖(A)顯示疏水性藥物 Taxol 的釋放率，而第九圖(B)顯示親水性藥物 DOX 的釋

放率。在中性環境下(如 pH 7), Taxol 可維持於核心不釋放, 而 DOX 的釋放率約為 20%。在 pH 5 及 pH 6 的環境下, 可明顯觀察到 Taxol 的釋放率在反應 2 小時後隨時間增加, 而 DOX 的釋放率約在反應 5 小時後達到高峰。

【0054】 本發明所發展出的藥物載體具有良好的酸鹼敏感特性, 可利用環境酸鹼值的不同, 迅速且精準的釋放大量藥物; 而且此藥物奈米載體的核磁共振自旋-自旋弛緩速率為 $109 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1} \text{ Fe}$, 證明具有核磁共振顯影的特性, 因此此磁性奈米載體非常適合當作核磁共振顯影自旋-自旋弛緩的顯影劑。此外, 這個藥物載體對生物細胞有非常高的生物相容性。結合這些特色, 此多功能性的奈米藥物載體結合了攜帶藥物、控制釋放及顯影效果, 對於生物藥物醫療上有更多的用處。

【0055】 實施例

【0056】 1. 一種藥物載體, 包括:

一核心, 包括:

一磁性材料; 以及

一親/疏水雙性明膠, 包裹該磁性材料; 以及

一氫氧基磷灰石外殼, 被配置於該核心外圍並用於儲存一水溶性藥物。

【0057】 2. 根據實施例 1 所述的藥物載體, 其中該磁性材料為四氧化三鐵(Fe_3O_4)。

【0058】 3. 根據實施例 1 或 2 所述的藥物載體, 其中該核心的表面為親水性, 而內部為疏水性。

【0059】 4. 根據前述任一實施例所述的藥物載體, 其中該藥物載體的大小介於 100 nm 至 400 nm 之間。

【0060】 5. 一種藥物組合物, 包括:

- 一奈米粒子，其具一外表面；
- 一外殼；以及
- 一藥物，與該外殼混合，並形成於該外表面上。

【0061】 6. 根據實施例 5 所述的藥物組合物，其中該外殼及該藥物係共同沉積到該外表面上，該外殼在一酸性環境下被溶解而釋放出該藥物。

【0062】 7. 根據實施例 5 或 6 所述的藥物組合物，其中該奈米粒子為一雙性明膠，使該奈米粒子的表面為親水性，而內部為疏水性。

【0063】 8. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該雙性明膠含有一己醯基。

【0064】 9. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該雙性明膠更包覆一疏水性分子及一脂溶性藥物至少其中之一。

【0065】 10. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該疏水性分子為一磁性材料。

【0066】 11. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該脂溶性藥物選自紫杉醇(Taxol)、紫杉醇衍生物、喜樹鹼(Camptothecin)及喜樹鹼衍生物所組成群組的至少其中之一。

【0067】 12. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該外殼為一氫氧基磷灰石且該藥物為一水溶性藥物。

【0068】 13. 根據前述任一實施例所述的藥物組合物，其中該水溶性藥物為阿黴素(Doxorubicin)及其衍生物至少其中之一。

【0069】 14. 一種製造一藥物組合物的方法，包括：

- 提供一奈米粒子，其具一外表面；
- 提供一外殼材料；
- 提供一藥物，使該藥物與該外殼材料混合，以形成一混

合物；以及使該混合物吸附於該外表面。

【0070】 縱使本案已由上述之實施例所詳細敘述而可由熟悉本技藝之人士任施匠思而為諸般修飾，然皆不脫如附申請專利範圍所欲保護者。

【符號說明】

- 【0071】
- 1 雙性明膠
 - 2 氧化鐵奈米粒子
 - 3 氧化鐵@雙性明膠奈米球體
 - 4 藥物載體
 - 60 藥物
 - 61 雙性明膠
 - 62 氧化鐵奈米粒子
 - 63 第一藥物
 - 64 氧化鐵@雙性明膠奈米球體
 - 65 第二藥物
 - 66 藥物組合物

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

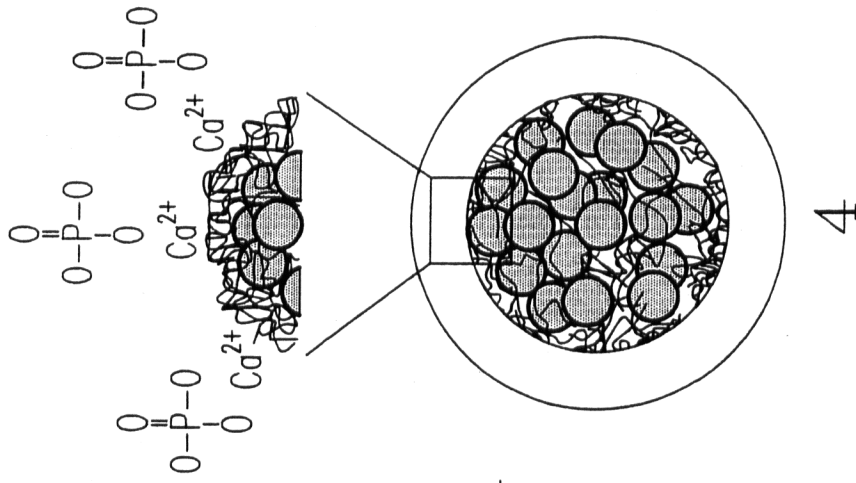
【序列表】 (請換頁單獨記載)

申請專利範圍

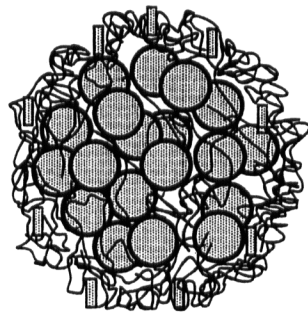
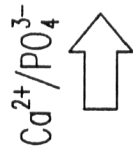
1. 一種藥物載體，包括：
 - 一核心，包括：
 - 一磁性材料；以及
 - 一親/疏水雙性明膠，包裹該磁性材料；以及
 - 一氫氧基磷灰石外殼，被配置於該核心外圍並用於儲存一水溶性藥物。
2. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物載體，其中該磁性材料為四氧化三鐵(Fe_3O_4)。
3. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物載體，其中該核心的表面為親水性，而內部為疏水性。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述的藥物載體，其中該藥物載體的大小介於 100 nm 至 400 nm 之間。
5. 一種藥物組合物，包括：
 - 一奈米粒子，其具一外表面；
 - 一外殼；以及
 - 一藥物，與該外殼混合，並形成於該外表面上。
6. 如申請專利範圍第 5 項所述的藥物組合物，其中該外殼及該藥物係共同沉積到該外表面上，該外殼在一酸性環境下被溶解而釋放出該藥物。
7. 如申請專利範圍第 5 項所述的藥物組合物，其中該奈米粒子為一雙性明膠，使該奈米粒子的表面為親水性，而內部為疏水性。
8. 如申請專利範圍第 7 項所述的藥物組合物，其中該雙性明膠含有一己醯基。
9. 如申請專利範圍第 7 項所述的藥物組合物，其中該雙性明膠更包覆一疏水性分子及一脂溶性藥物至少其中之一。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述的藥物組合物，其中該疏水性分子為一磁性材料。
11. 如申請專利範圍第 9 項所述的藥物組合物，其中該脂溶性藥物選自紫杉醇(Taxol)、紫杉醇衍生物、喜樹鹼(Camptothecin)及喜樹鹼衍生物所組成群組的至少其中之一。
12. 如申請專利範圍第 5 項所述的藥物組合物，其中該外殼為一氫氧基磷灰石且該藥物為一水溶性藥物。
13. 如申請專利範圍第 12 項所述的藥物組合物，其中該水溶性藥物為阿黴素(Doxorubicin)及其衍生物至少其中之一。
14. 一種製造一藥物組合物的方法，包括：
 - 提供一奈米粒子，其具一外表面；
 - 提供一外殼材料；
 - 提供一藥物，使該藥物與該外殼材料混合，以形成一混合物；以及使該混合物吸附於該外表面。

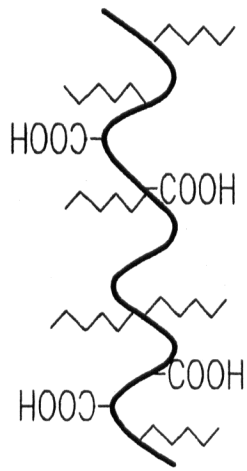
圖式



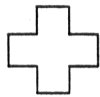
4



3

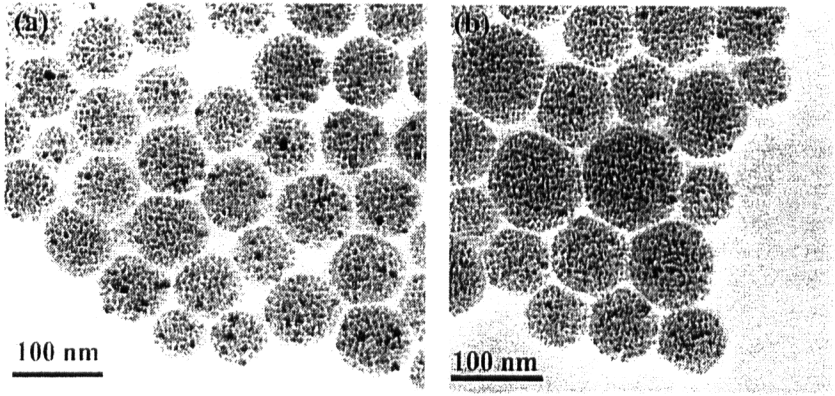


1

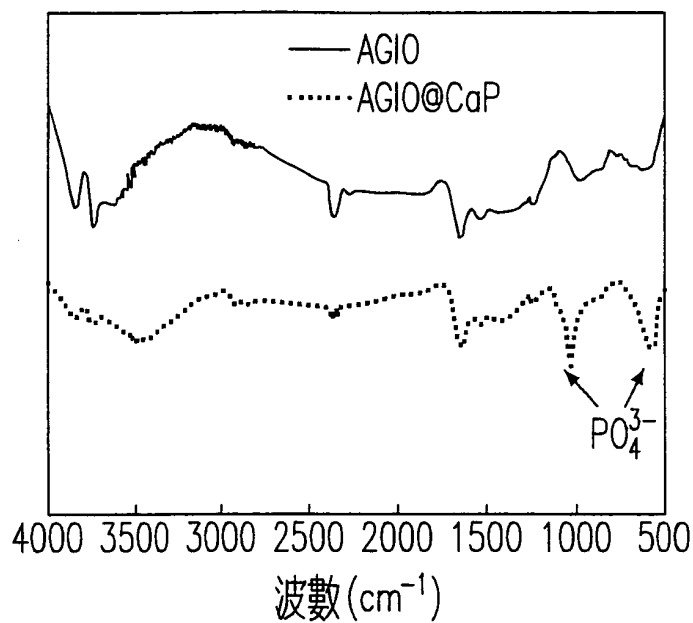


2

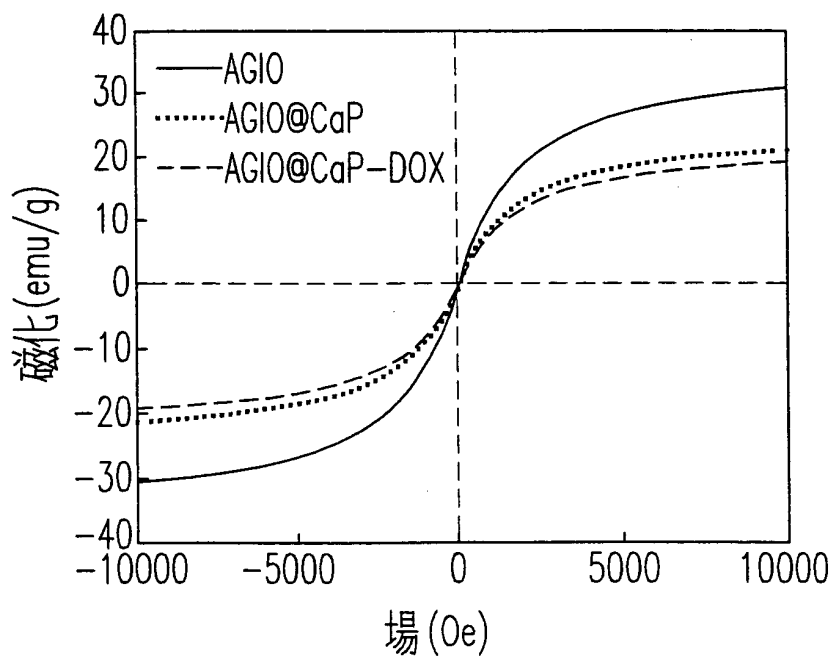
第一圖



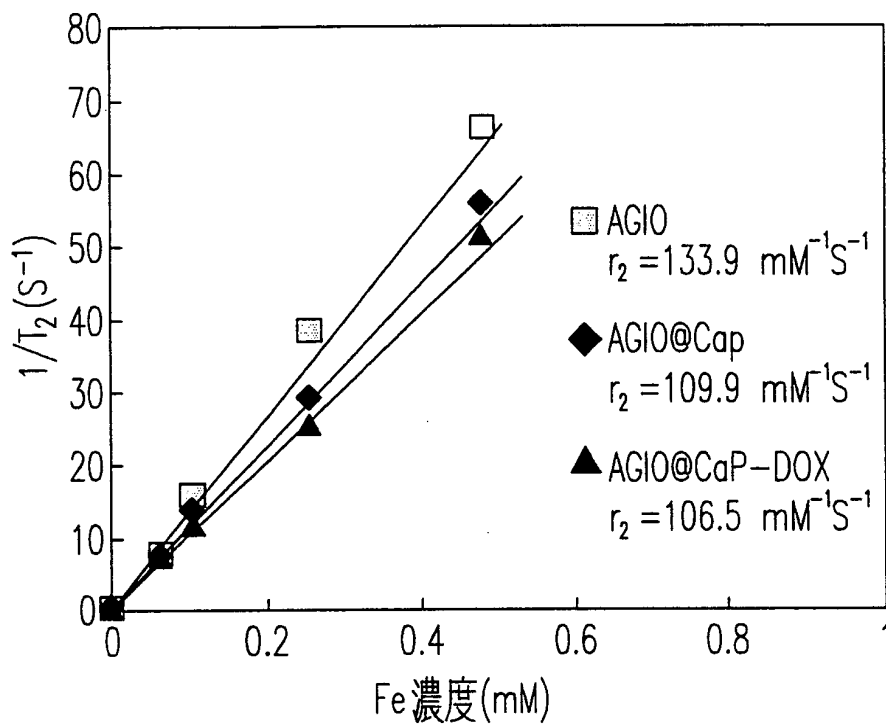
第二圖



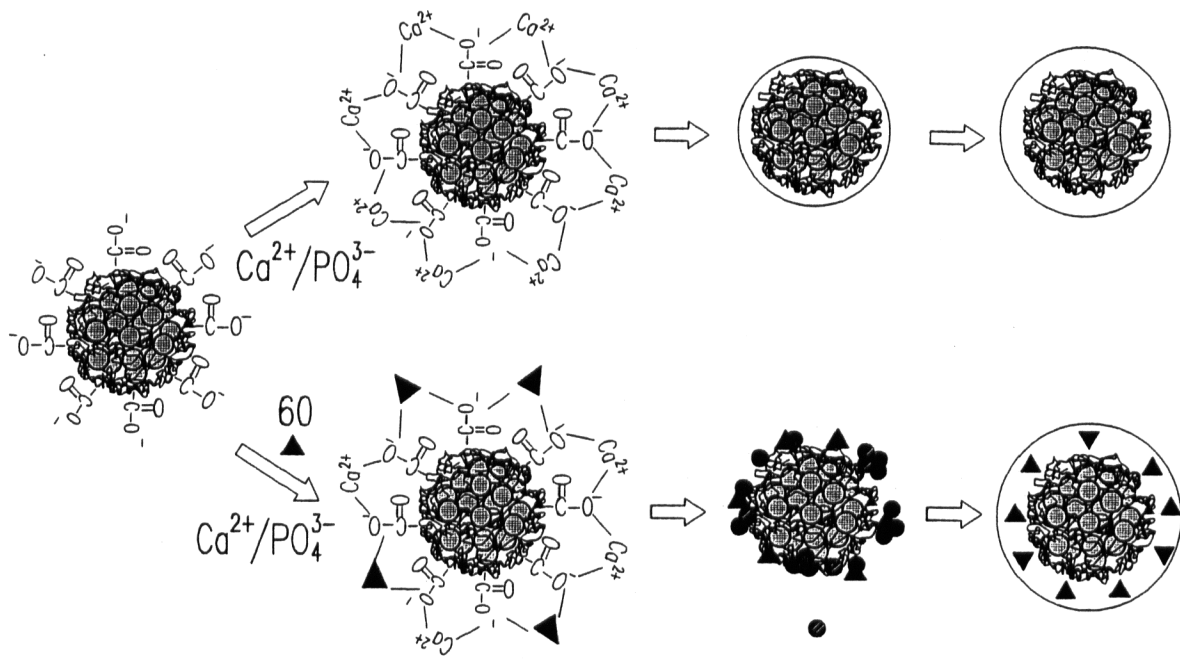
第三圖



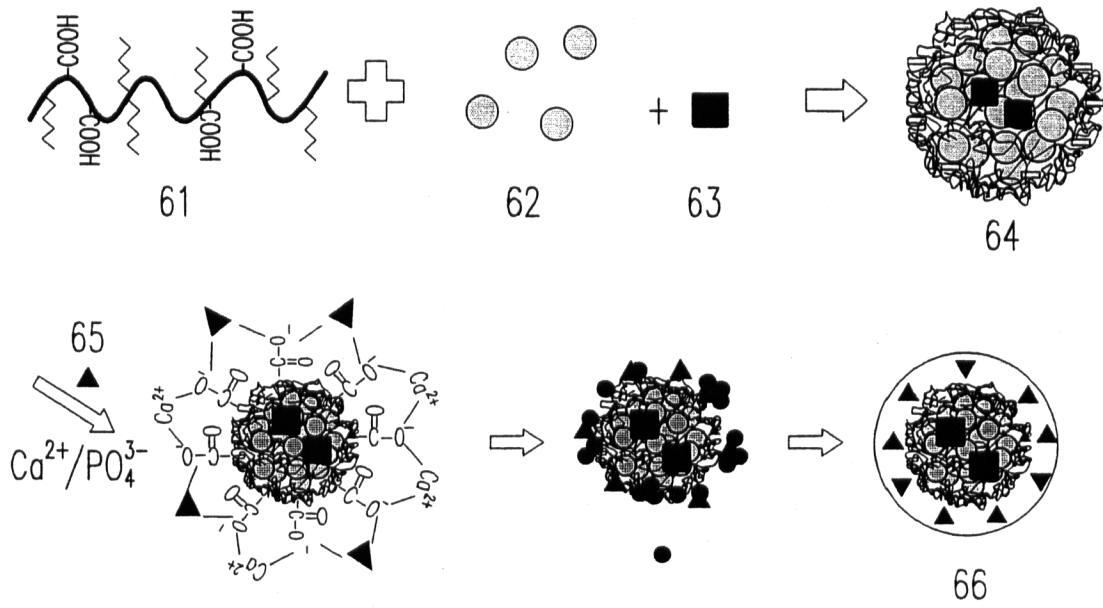
第四圖



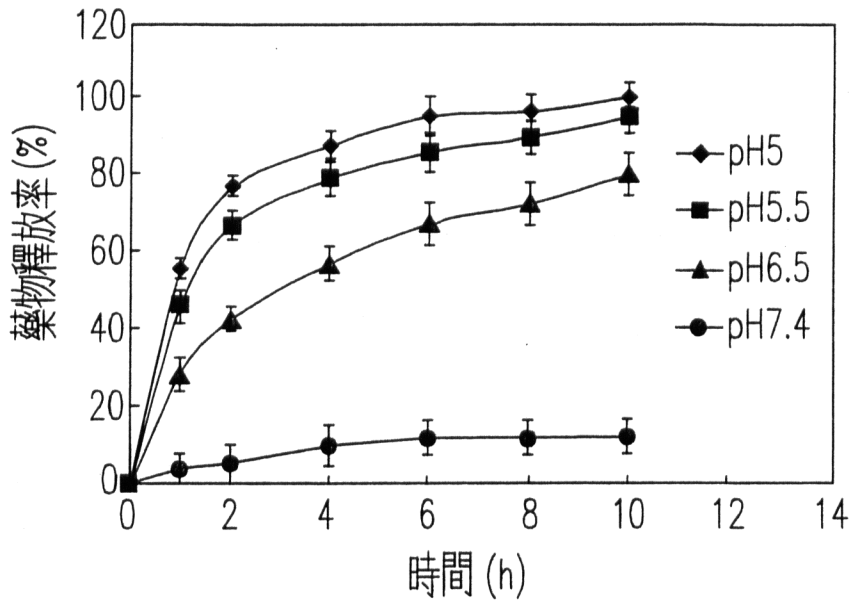
第五圖



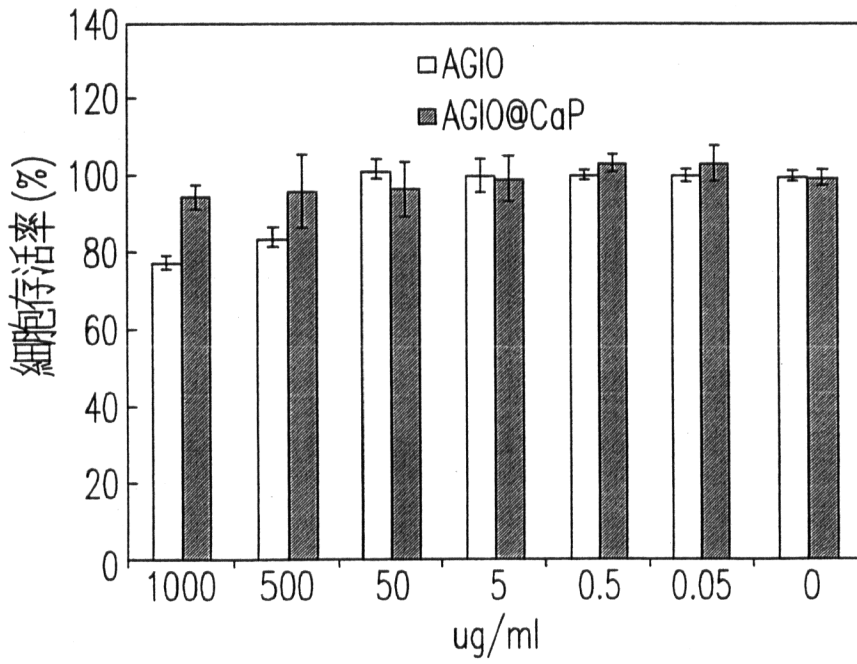
第六圖(A)



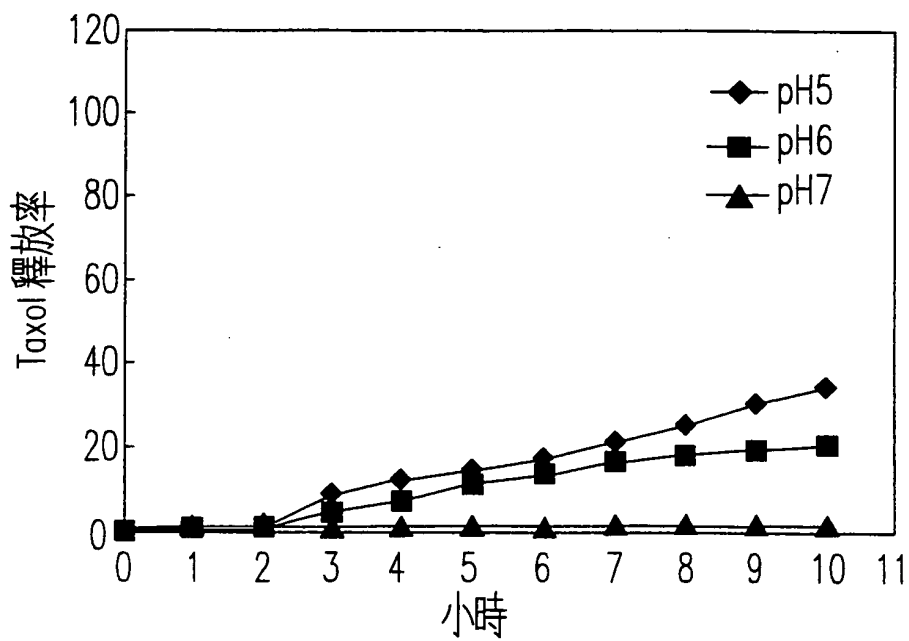
第六圖(B)



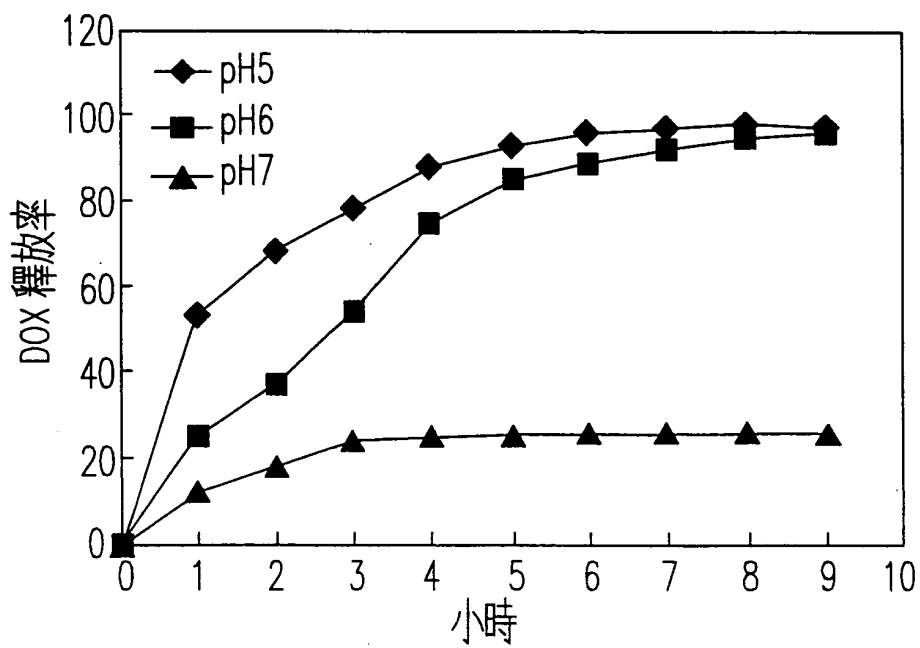
第七圖



第八圖



第九圖(A)



第九圖(B)