



(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 I504413 B

(45) 公告日：中華民國 104 (2015) 年 10 月 21 日

(21) 申請案號：102126498

(22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 24 日

(51) Int. Cl. : A61K49/22 (2006.01)

A61K47/02 (2006.01)

A61K47/30 (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)；黃信揚 HUANG, HSIN YANG (TW)；胡尚秀 HU, SHANG HSIU (TW)

(74) 代理人：蔡清福

(56) 參考文獻：

TW 201103563A1

TW 201247225A1

蕭義正，《溫度感應型水膠應用於聚焦型超音波熱治療之研究》，大同大學，2007 年 7 月。

審查人員：黃文延

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：11 共 34 頁

(54) 名稱

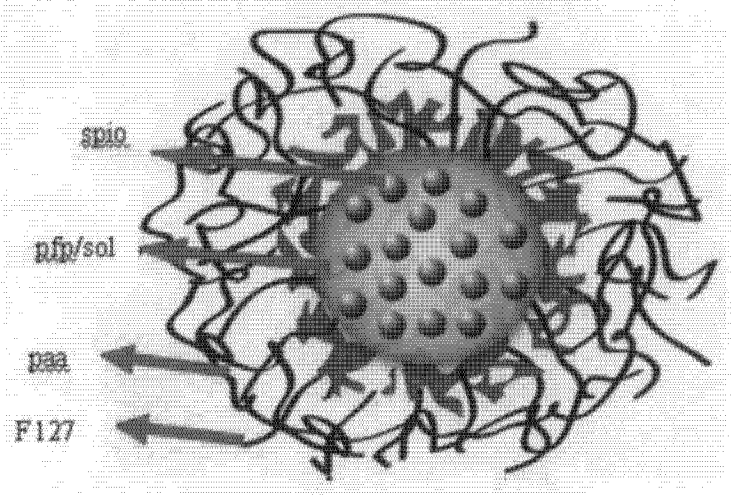
奈米級複合高分子顯影劑及藥物載體

COMPOSITE POLYMER CONTRAST AGENT AND DRUG CARRIER IN NANO-SCALE

(57) 摘要

本發明提出一種合成一奈米級複合高分子之方法，而該奈米級複合高分子可運用於醫學影像之顯影劑及藥物載體。該方法包含下列步驟：將一氣體溶解於一有機溶劑之中以形成一有機相溶液；將一水溶性高分子及一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液；將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成一混合物；以及在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，使該混合物自組裝而形成該奈米級複合高分子。

A method of producing a composite polymer in nano-scale is provided and the composite polymer in nano-scale could be used as a contrast agent in medical images and a drug carrier. The method includes following steps. To dissolve a gas in an organic solvent to form an organic-phase solution. To dissolve a water soluble polymer and a temperature sensitive polymer into water to form a water-phase solution. To oscillate organic-phase solution and the water-phase solution altogether to form a mixture; and within a temperate gradient, to proceed a heating process first and then a cooling process against the mixture for the purpose that the mixture could be self-assembled to form the composite polymer in nano-scale.



- f127 . . . 普朗尼克
- F127
- spio . . . 超順磁性
氧化鐵
- pfp/sol . . . 全氟化
物和溶劑
- paa . . . 聚丙烯酸

圖 6(a)

發明摘要

※ 申請案號：102126498

※ 申請日：102.7.24

※IPC 分類：

A61K 47/22, 47/02
A61K 47/30

【發明名稱】(中文/英文)

奈米級複合高分子顯影劑及藥物載體

COMPOSITE POLYMER CONTRAST AGENT AND DRUG CARRIER IN
NANO-SCALE

【中文】

本發明提出一種合成一奈米級複合高分子之方法，而該奈米級複合高分子可運用於醫學影像之顯影劑及藥物載體。該方法包含下列步驟：將一氣體溶解於一有機溶劑之中以形成一有機相溶液；將一水溶性高分子及一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液；將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成一混合物；以及在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，使該混合物自組裝而形成該奈米級複合高分子。

【英文】

A method of producing a composite polymer in nano-scale is provided and the composite polymer in nano-scale could be used as a contrast agent in medical images and a drug carrier. The method includes following steps. To dissolve a gas in an organic solvent to form an organic-phase solution. To dissolve a water soluble polymer and a temperature sensitive polymer into water to form a

water-phase solution. To oscillate organic-phase solution and the water-phase solution altogether to form a mixture; and within a temperate gradient, to proceed a heating process first and then a cooling process against the mixture for the purpose that the mixture could be self-assembled to form the composite polymer in nano-scale.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖6(a)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

f127	普朗尼克F127
spio	超順磁性氧化鐵
pfp/sol	全氟化物 and 溶劑
paa	聚丙烯酸

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

water-phase solution. To oscillate organic-phase solution and the water-phase solution altogether to form a mixture; and within a temperate gradient, to proceed a heating process first and then a cooling process against the mixture for the purpose that the mixture could be self-assembled to form the composite polymer in nano-scale.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖6(a)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

f127	普朗尼克F127
spio	超順磁性氧化鐵
pfp/sol	全氟化物 and 溶劑
paa	聚丙烯酸

【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)

奈米級複合高分子顯影劑及藥物載體

COMPOSITE POLYMER CONTRAST AGENT AND DRUG CARRIER IN
NANO-SCALE

【技術領域】

【0001】 本案是有關於一種奈米級複合高分子及其製造方法，特別是有關於一種兼具磁、聲特性的顯影劑或藥物載體之用途。

【先前技術】

【0002】 目前用於藥物釋放控制系統，大多為酸鹼及熱敏感性材料所構成，上述材料只能在體內的某些特定部位達到功效，而無法廣泛地滿足大多數需要控制藥物釋放的情況。

【0003】 然而，多數的藥物釋放系統或藥物載體，其結構鬆散不穩定，於體內輸送時，其結構非常容易遭受破壞，且在輸送過程中容易漏藥，進而無法在特定的位置釋放特定的藥物，尤其是熱敏感性的高分子，比如高分子普朗尼克(Pluronic)為三嵌段聚合物，由聚環氧乙烷(PEO)以及聚環氧丙烷(PPO)所組合而成，具有溫度敏感的特性。若單純利用普朗尼克來製作藥物載體時，由於其結構鬆散不穩定，於常溫存放時，容易回溶於水溶液中。請參閱圖1(a)-圖1(c)。圖1(a)-圖1(c)顯示普朗尼克Pluronic F127 (PEO_n-PPO_m-PEO_n)的結構隨溫度變化圖。在室溫之下，溶液態的普朗尼克F127 (以f127表示一任意單位，以下皆然)的結構呈現鬆散狀(如圖1(a)所

示)。若對f127加熱而升溫(如圖1(b)所示), f127產生乳化而其結構緊實, 體積縮小。然而, 一旦溶液的溫度下降(如圖1(c)所示), f127的結構再度呈現鬆散狀。即單純f127雖然可以在高溫的條件下, 因非極性端聚集以減少介面能產生團聚, 然而並無法形成穩定的奈米超音波微泡結構。

【0004】 一般熱敏感性高分子所合成的藥物載體, 若沒有利用化學交聯劑, 則使熱敏感藥物載體的結構不穩定且不易製備, 但化學交聯劑的使用又常常對於生物相容性較差。因此, 如何能夠有效地且不使用化學交聯劑, 能夠製備出穩定的熱敏感藥物載體, 進而於藥物釋放系統或藥物載體在到達標的位置前, 能達到降低自然漏藥的特性。而且到達標的位置後, 能夠以外加能量的方式來控制藥物釋放之技術手段, 實為在本領域中的首要課題。此外, 超音波顯影劑大都是以習知的高分子材料製備, 其缺失如下: 超音波微泡較不穩定、製備過程較複雜且目前無類似的方法, 以一簡單步驟可合成摻雜型奈米超音波微泡, 以及尚無超音波顯影劑可同時應用於腫瘤影像及控制藥物釋放。

【0005】 台灣專利案201113040揭露一種磁性奈米粒子的製備方法, 包括: 首先將葉酸及普朗尼克F127聚合物進行反應成爲一葉酸-普朗尼克F127聚合物; 之後將聚丙烯酸及氯化鐵進行反應成爲聚丙烯酸鍵結的氧化鐵; 最終在交聯劑的調控下, 將該葉酸-普朗尼克F127聚合物及該聚丙烯酸鍵結的氧化鐵進行酯化反應成爲葉酸-聚合物-聚丙烯酸鍵結的水溶性氧化鐵粒子, 此即磁性奈米粒子。該當磁性奈米粒子包覆尼羅紅時, 同時可作爲藥物載體及核磁共振影像的顯影劑。然而, 該磁性奈米粒子需使用交聯劑以形成一穩定的藥物載體, 該且該顯影劑不能被應用於超音波影像的用

途之上。

【發明內容】

【0006】 本案之主要目的在於揭示一種藉由聚乙醯酸與具有生物相容性的溫度敏感型等兩種具有功能性高分子，以特定比例摻雜搭配，並且加入油相氧化鐵，然後利用介面化學的特性，經由溫度梯度內的變換使其自組裝成具有中空結構的奈米超音波微泡。上述製程簡單且快速，可建構穩定度高、並具有核磁共振影像與超音波影像敏感之奈米超音波微泡 (nanobubble)。

【0007】 本案另一目的在於揭示：一種合成複合磁性奈米超音波微泡之方法，包含下列步驟：將一磁性奈米粒子溶於一有機溶劑之中以形成一有機相溶液。將一水溶性高分子和一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液。將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成一混合物；以及在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，在該降溫過程之後，將一氣體打入該混合物，使該混合物自組裝而形成該複合磁性奈米超音波微泡。

【0008】 本案另一目的在於揭示：一種超音波顯影劑，而該超音波顯影劑可由合成複合磁性奈米超音波微泡之方法所製作。

【0009】 本案另一目的在於揭示：一種合成複合磁性奈米中空藥物載體之方法，包含下列步驟：將一藥物與一磁性奈米粒子溶於一有機溶劑之中以形成一有機相溶液。將一水溶性高分子和一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液。將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成一

混合物；以及在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，使該混合物自組裝而形成該複合磁性奈米中空藥物載體。

【0010】 本案另一目的在於揭示：一種使用合成複合磁性奈米中空藥物載體之方法所製作的藥物載體，其中當一聚焦超音波被施加到該藥物載體時，該藥物載體的結構被改變，進而釋放該藥物載體中的該藥物。

【圖式簡單說明】

【0011】 本案得藉由下列圖式之詳細說明，俾得更深入之瞭解：

圖1(a)-圖1(c)顯示普朗尼克的結構隨溫度變化圖。

圖2(a)-圖2(c)顯示加入聚丙烯酸的普朗尼克的結構隨溫度變化圖。

圖3(a)-圖3(c)為合成一奈米級複合高分子之方法的實施例。

圖4顯示普朗尼克F127與（PAA+普朗尼克F127）的奈米超音波微泡在不同溫度下的直徑變化圖。

圖5顯示不同組成的奈米超音波微泡在相應超音波影像下的平均灰階值(dB)。

圖6(a)-圖6(d)顯示複合磁性奈米超音波微泡合成方法的一實施例。

圖7(a)顯示包含氧化鐵的奈米超音波微泡的超音波影像下的平均灰階值(dB)。

圖7(b)顯示不同組成的奈米超音波微泡在相應超音波影像下的增強度百分比。

圖8(a)-圖8(c)顯示在不同濃度的氧化鐵奈米粒子的條件之下，奈米超音波微泡的穿透式電子顯微鏡影像。

圖9繪示核磁共振下弛緩時間常數的倒數對鐵離子濃度的曲線。

圖10(a)顯示在施加聚焦超音波之下，具有不同SPIO濃度的複合磁性奈米超音波微泡，呈現不同的釋放特性。

圖10(b)示意在聚焦超音波刺激複合磁性奈米超音波微泡的情況。

圖10(c)-圖10(d)顯示穿透式電子顯微鏡下，在聚焦超音波刺激時，複合磁性奈米超音波微泡的結構變化。

圖11顯示合成複合磁性奈米超音波微泡之方法的一實施例。

【實施方式】

● **【0012】** 本文提出利用普朗尼克和摻雜劑，合成具有一中空結構之一奈米級複合高分子npp的方法及其應用。請參閱圖2(a)-圖2(c)。圖2(a)-圖2(c)顯示加入聚丙烯酸(Polyacrylic Acid, PAA)的普朗尼克的結構隨溫度變化圖。圖2(a)顯示利用溫度敏感型高分子tp，比如普朗尼克F127（以f127表示）或普朗尼克F68（以f68表示），而與另一水溶性高分子wp（比如一單位的高分子聚丙烯酸paa）的交互作用的原理。在一實施例中，f127溶液中加入paa，以強化內部氫鍵hb鍵結。並透過控制溫度，改變f127的極性。圖2(b)顯示在乳化升溫之後，f127中的PPO鍵轉成疏水態(非極性)，因而開始團聚於內核，而paa因為是強極性高分子，故包覆在外殼。圖2(c)顯示：降溫時，paa的羧基與f127的PEO鏈段形成氫鍵鍵結，而奈米粒子內核中f127的PPO鏈段因為降溫，開始轉成親水性(極性)，並且擴張開來，即形成具有一中空結構hs之奈米級複合高分子npp。

● **【0013】** 上述奈米級複合高分子npp的中空結構亦可作為具有高度聲敏型奈米超音波微泡之複合磁性奈米中空藥物載體，藉由上述兩種高分子的比例混合摻雜搭配，可建構高穩定度與超音波敏感型之奈米級複合高分

子，達到可利用特定頻率的超音波快速驅動藥物釋放，並藉由奈米材料的製程技術，來控制載體結構。在一實施例中，首先，將磁性奈米粒子和藥物（例如重量百分比濃度為0.1%的螢光分子、親疏水性分子、生物分子或其他功能性物質的其中之一）溶解於有機溶劑（比如以冰浴處理的二氯甲烷2 mL）以形成一有機相溶液。然而，在另一實施例中，藥物和全氟化物亦可溶於水溶性溶劑。在本實施例中，另外將重量百分比濃度2%、12mL的溫度敏感型高分子普朗尼克F127與水溶性高分子、重量百分比濃度5%、3mL的聚乙烯酸(Polyacrylic Acid, PAA)共同溶於水中約1小時，直至水相溶液呈現澄清的狀態。將水相溶液與有機相溶液混和。而水相與有機相溶液體積的比例，固定在一個比例範圍，比如15:2。混合後，利用強超音波震盪1分鐘，產生均一乳化相的混合溶液。此後，該混合溶液微微加熱到29-32°C，攪拌約半小時，接著加熱到55-70°C，將有機相溶液完全揮發。利用離心的方法，將未包覆的藥物與高分子除去，並令該混合溶液靜置一段時間，使混合溶液的溫度與室溫平衡之後，該混合溶液即自組裝而形成同時具有一外殼和一中空結構的複合高分子，即複合磁性奈米中空藥物載體。

【0014】 請參閱圖3(a)。圖3(a)為一種合成一奈米級複合高分子之方法的一實施例，包含下列步驟：

【0015】 如步驟S3101所示，首先將一氣體（比如全氟化物或六氟化硫）溶解於一有機溶劑（比如以冰浴處理的二氯甲烷）之中以形成一有機相溶液。如步驟S3102所示，隨後將一水溶性高分子（比如聚乙烯酸或聚乙烯醇）及一溫度敏感型高分子（比如普朗尼克）溶解於水中以形成一水相溶液。如步驟S3103所示，接著將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形

成一混合物。如步驟S3104所示，最後在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，使該混合物自組裝而形成該奈米級複合高分子。

【0016】 請參閱圖3(b)。圖3(b)為一種合成一奈米級複合高分子之方法的一實施例，包含下列步驟：

【0017】 首先，如步驟S3201所示，將一氣體（比如全氟化物或六氟化硫）溶解於一有機溶劑（比如以冰浴處理的二氯甲烷）之中以形成一有機相溶液。隨即，如步驟S3202所示，形成一水相溶液。最後，如步驟S3203所示，將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成具一中空結構之該奈米級複合高分子。

【0018】 請參閱圖3(c)。圖3(c)為一種合成一奈米級複合高分子之方法的一實施例，包含下列步驟：

【0019】 如步驟S3301所示，形成一混合物溶液。如步驟S3302所示，加熱該混合物溶液。以及如步驟S3303所示，冷卻該經加熱之混合物溶液，使該混合物自組裝而形成該奈米級複合高分子。

【0020】 請參閱圖4。圖4顯示單純普朗尼克F127（F127）與聚丙烯酸PAA摻雜普朗尼克F127（PAA+F127）的奈米超音波微泡在不同溫度下，粒子直徑變化圖。單純普朗尼克F127的奈米超音波微泡，會在低溫的時候直接溶解回水溶液，而無法探測出粒子的大小。而聚丙烯酸PAA摻雜普朗尼克F127的奈米超音波微泡，則可以經由不同的溫度循環（圖4中的兩對箭號表示升溫或降溫）來造成體積的縮放，在接近人體溫度下具一中空結構。此種超音波敏感奈米超音波微泡對於超音波的反應，也隨著組成比例的不

同而變。

【0021】 在另一個實施例中，圖5顯示不同組成的奈米超音波微泡，在相應超音波影像下的平均灰階值(dB)，其中橫軸是依重量百分比濃度區分的組成比例，縱軸是相應超音波影像的亮度(dB)。在本實施中，考慮了三組不同組成條件的奈米超音波微泡，分別是：在55°C下摻雜聚丙烯酸PAA和普朗尼克F127；在70°C下摻雜聚乙烯醇 Polyvinyl Alcohol (PVA)和普朗尼克F127；以及在55°C下摻雜聚乙烯醇PVA和普朗尼克F127。影像平均灰階值一開始隨著普朗尼克F127對於PAA的比例增加而增加（1/4、2/3、3/2），直到F127/PAA=3/2時，影像平均灰階值達到50dB最高之後便開始下降。此外，當普朗尼克F127溶液加入不同比例，極性較低的聚乙烯醇PVA高分子，發現也可以合成出類似功能性的奈米超音波微泡，但是需要提高溫度到70°C，才能造成極性差異，進而形成奈米超音波微泡。

【0022】 另一方面，本文提出複合磁性奈米超音波微泡顯影劑合成方法。溫度敏感型高分子普朗尼克F127、高分子聚丙烯酸（PAA），以及一種磁性奈米粒子，即超順磁性氧化鐵（SPIO）奈米粒子，一同形成兼具超音波及磁敏感特性之奈米膠囊中空結構。而此複合磁性奈米超音波微泡係氧化鐵奈米粒子散布於高分子外殼。

【0023】 圖6(a)顯示在一實施例中，將藥物（重量百分比濃度0.1%）、直徑介於2-30奈米(nm)之間的磁性奈米粒子，比如超順磁性氧化鐵(SPIO，以spio表示)與5μL的氣體狀的全氟化物(PFP，以pfp表示)（或六氟化硫(SF₆)）溶解於經冰浴處理之有機相溶液（比如2 mL的二氯甲烷溶劑sol），形成單一有機相溶液。在其他的實施之中，磁性奈米粒子可包括一四氧化

三鐵 (Fe_3O_4)、一三氧化二鐵 (Fe_2O_3)、一鈷鐵氧化物 (CoFe_2O_4)、一錳鐵氧化物 (MnFe_2O_4) 和一氧化釷 (Gd_2O_3) 的其中之一，而其前趨物可以包括但不局限於氯化物、硝酸鹽、醋酸鹽等。

【0024】 另外將重量百分比濃度2%、12mL溫度敏感型高分子普朗尼克F127 (以f127表示) 與重量百分比濃度5%、3mL的聚丙烯酸 (PAA, 以paa表示) 置於水中約1小時，直至水相溶液呈現澄清的狀態。將水相溶液與有機相溶液混和，而水相與有機相溶液體積的比例，固定在一個比例，例如15:2。混合後，利用強超音波震盪1分鐘，產生一乳化相溶液。

【0025】 請參見圖6(b)-圖6(c)。圖6(b)-圖6(c)顯示，該混合溶液微微加熱到29~32°C，攪拌約半小時，此時溫度敏感型高分子普朗尼克F127開始收縮 (如圖6(b)中四個向內的箭號所示)，而內部的全氟化物開始氣化，漸漸聚集在內核中，並且把超順磁性氧化鐵推往外殼 (如圖6(b)中八個向外的短箭號所示)。接著加熱到55°C，將有機相溶液揮發 (如圖6(b)中個向外的長箭號所示)。

【0026】 圖6(d)顯示利用離心的方法，將未包覆的藥物與高分子除去，即完成含有氧化鐵奈米粒子外殼的奈米超音波微泡，而該奈米超音波微泡具有一中空結構，其中該中空結構的直徑介於150奈米至500奈米之間，外殼厚度介於5奈米至100奈米之間。圖6(d)中的方框示意受壓縮的外殼。

【0027】 在另一個實施例中，圖7(a)顯示將超順磁性氧化鐵加入不同組成的奈米超音波微泡，在相應超音波影像下的平均灰階值(dB)，其中橫軸是氧化鐵濃度，縱軸是相應超音波影像的亮度(dB)。在本實施中，考慮了三組情況，分別是：在55°C下摻雜聚丙烯酸 (PAA) 和普朗尼克F127；在70°C

下摻雜聚乙烯醇(PVA)和普朗尼克F127;以及在55°C下摻雜聚乙烯醇(PVA)和普朗尼克F127。可以發現普朗尼克F127摻雜丙烯酸(PAA)時(F127/PAA=3/2),加入氧化鐵之後可以巨幅的增加奈米超音波微泡在超音波影像的對比效果(95dB)。

【0028】 在另一個實施例中,圖7(b)顯示不同組成的奈米超音波微泡,在相應超音波影像下的增強度百分比,其中橫軸是依重量百分比濃度區分的組成比例,縱軸是相應超音波影像的增強度百分比(%)。在本實施中,考慮了三組情況,分別是:在55°C下摻雜聚丙烯酸(PAA)和普朗尼克F127;在55°C下摻雜聚丙烯酸(PAA)和普朗尼克F68;以及在70°C下摻雜聚乙烯醇(PVA)和普朗尼克F68;在55°C下摻雜聚乙烯醇(PVA)和普朗尼克F127。可以發現普朗尼克F68替代普朗尼克F127時,亦可使得奈米超音波微泡在超音波影像中的顯影對比強化,可知此類溫度敏感型高分子都具有類似的效果。

【0029】 圖8(a)-圖8(c)顯示在不同濃度的氧化鐵奈米粒子(低濃度、中濃度和高濃度)的條件之下,奈米超音波微泡的穿透式電子顯微鏡影像,其中氧化鐵奈米粒子均勻環繞在奈米超音波微泡的外殼中。奈米超音波微泡的大小約介於190奈米~230奈米的範圍之間。而加入不同濃度的氧化鐵奈米粒子可以形成不同外殼厚度的複合磁性奈米超音波微泡;氧化鐵奈米粒子的濃度越高,所形成的複合磁性奈米超音波微泡的外殼厚度越厚,內核的體積越小,反之亦然。最重要的是可以利用氧化鐵加強外殼的結構,在超音波影像對比上可以增強到95dB以上。

【0030】 圖9繪示核磁共振下 $1/T_2$ 對鐵離子濃度的曲線,其中橫軸為

鐵離子濃度 (M)，縱軸為 T_2 的倒數。 T_1 和 T_2 分別為針對磁化強度的縱向或橫向的參數。在經過核磁共振後，複合磁性奈米超音波微泡為一良好的顯影劑，相應於不同濃度28.8mg/mL、18.8mg/ml和9.4mg/ml的SPIO溶液，所形成的奈米級複合高分子顯影劑的 r_2 值分別為208、183和164。 r_2 為勻場 (shimming) 的參數。

【0031】 此外，本案所發展出的複合磁性奈米超音波微泡，由於其具中空結構，具有良好的超音波感特性，可利用聚焦超音波 (HIFU) 的操控誘導微泡瞬間壓縮變化，造成外殼結構破壞，進而迅速且精準的釋放大量藥物，而作為一種藥物載體。此外，在未給予藥物載體聚焦超音波時，載體可持續將藥物良好包覆於內核，此項特性對於長時間藥物控制有極大助益，然後在施加超音波能量之後，可以透過核磁共振設備，以監測附近組織磁學特性的變化。

【0032】 圖10(a)顯示在施加固定條件的聚焦超音波HIFU，具有不同SPIO濃度以及不同外殼厚度的複合磁性奈米超音波微泡 (nb)，呈現不同藥物的釋放特性，其中橫軸為時間，縱軸為累積釋放量。HIFU可設定成：400KHz的脈衝在0.001秒開啓，而在0.999秒關閉。包含9.4mg/mL的SPIO的奈米超音波微泡，具有較薄外殼的物理特性，則呈現最强的超音波反應，而藥物濃度快速的上升。在一實施例中，將卡莫斯汀 (Carmustine) 或紫杉醇 (paclitaxel) 作為模擬的藥物，將其包覆於該奈米超音波微泡內，測試其對於此超音波敏感的特性，為在未加超音波之前的狀態，僅有極小量的釋放，表示藥物可以儲藏於該奈米超音波微泡的內核；而在外加HIFU作用之後，藥物迅速由內核釋放出來。

【0033】 圖10(b)示意在HIFU刺激時，包含一中空結構hs的複合磁性奈米超音波微泡會先團聚然後再爆破成藥物med和外殼coa的片段，為良好的藥物載體car及釋放系統。外殼coa的片段可更包括一溫度敏感型高分子tp和一水溶性高分子wp。圖10(c)顯示HIFU刺激中的複合磁性奈米超音波微泡先開始團聚，此圖的比例尺為200nm。圖10(d)顯示HIFU刺激後，複合磁性奈米超音波微泡的破裂狀況，其中圈形、箭號和凹盤皆為局部示意，此圖的比例尺為100nm。

【0034】 請參閱圖11。圖11為合成複合磁性奈米超音波微泡之方法的實施例，包含下列步驟：

【0035】 如步驟S1101所示，將一磁性奈米粒子溶於一有機溶劑之中以形成一有機相溶液，其中該磁性奈米粒子包括一四氧化三鐵 (Fe_3O_4)、一三氧化二鐵 (Fe_2O_3)、一鈷鐵氧化物 (CoFe_2O_4)、一錳鐵氧化物 (MnFe_2O_4) 和一氧化釷 (Gd_2O_3) 的其中之一，該有機溶劑包括一二氯甲烷。

【0036】 如步驟S1102所示，將一水溶性高分子和一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液，其中該水溶性高分子包括一聚乙醯酸 (Polyacrylic Acid, PAA) 和一聚乙醯醇 (Polyvinyl alcohol, PVA) 的其中之一，該溫度敏感型高分子包括一普朗尼克 (Pluronic) F68 和一普朗尼克 F127 的其中之一。

【0037】 如步驟S1103所示，將該有機相溶液和該水相溶液一起震盪以形成一混合物。

【0038】 如步驟S1104所示，在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，而該升溫過程包括下列步驟：將該混合

物緩緩加熱到攝氏29-32度，攪拌約半小時，接著將該混合物加熱到攝氏55-70度，以便揮發該有機相溶液。在該降溫過程之後，將一氣體打入該混合物，使該混合物自組裝而形成該複合磁性奈米超音波微泡，其中該氣體包括一全氟化物(Perfluoropentane, PFP, C_5F_{12})和六氟化硫(SF_6)的其中之一；該複合磁性奈米超音波微泡更包括具有該磁性奈米粒子的一外殼，該外殼環繞於該複合磁性奈米超音波微泡之外部以形成一中空結構，該磁性奈米粒子的直徑介於2奈米至15奈米之間，該複合磁性奈米超音波微泡的直徑介於150奈米至500奈米之間。

【0039】 綜上所述，本文揭露一種兼具高穩定性與高溫度敏感性的複合高分子，實為一難能可貴之發明。其可被應用於以下產業：藥物載體、癌症標靶治療、核磁共振影像、超音波影像、組織工程用生醫材料以及生醫元件。複合高分子可被開發為智慧型藥物載體、生物晶片、核磁共振或超音波影像的顯影劑等等的產品。

【0040】 詳而言之，在合成複合高分子時，高分子聚丙烯酸扮演一個輔助與穩定外殼的角色，此高分子可以提供大量穩定結構的氫鍵，使得奈米超音波微泡具有下列特性：穩定奈米結構：當聚丙烯酸含量過低時，奈米超音波微泡外殼的氫鍵作用力不強，則普朗尼克F127容易回溶於水溶液中。當提高聚乙烯醇的比例時，大量的氫鍵可以穩定該奈米結構，不過卻因為普朗尼克F127的含量變少，使得內核體積變化太小，影響奈米超音波微泡中空結構的生成。倘若奈米超音波微泡應用於藥物載體時，因其具有超音波敏感的特性，在外部聚焦超音波的操控下，能快速且精準的控制藥物釋放，然而累積的能量並不會造成藥物被破壞。此外，因奈米超音波微

泡的合成無需使用任何的化學交聯劑，故此該微泡藥物載體具有低毒性的特性。再者，奈米超音波微泡的製程在55°C即可合成，不會造成對於藥物活性的破壞。最後，此複合高分子具高生物相容性與低毒性，可作為超音波影像或核磁共振影像的首選顯影劑。

【0041】 在本文提出的實施例及許多修改將提示熟悉本領域人士所作出的發明，然而這些發明已涉及上述說明和相關圖示所提出的教導。因此，可以理解的是，發明不侷限於已公開的特定的實施例，修改和其他實施例將被包含在所附請求項的範圍之中，再者，儘管上述說明和相關圖示只描述了含蓋某些單元和/或功能示例性的組合的一示例性實施例，應當理解的是，不同單元和/或功能的組合可以由不同實施例所提供，卻不偏離所附請求項的範圍。在這方面，例如不僅前述所明確地描述的，單元和/或功能上的不同組合也包括於一些衍生的請求項之內。雖然本文使用特定名詞，它們被只用於通例和描述之用，而不應受侷限。

【符號說明】

【0042】

f127, F127 普朗尼克F127

f68, F68 普朗尼克F68

PEO 聚環氧乙烷

PPO 聚環氧丙烷

hb 氫鍵

pfp 全氟化物

sol	溶劑
paa, PAA	聚丙烯酸
PVA	聚乙烯醇
spio	超順磁性氧化鐵
car	載體
med	藥物
coa	外殼
nb	奈米超音波微泡
hs	中空結構

【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. 一種合成複合磁性奈米超音波微泡之方法，包含下列步驟：

將一磁性奈米粒子溶於一有機溶劑之中以形成一有機相混成溶液；

將一水溶性高分子和一溫度敏感型高分子進行一特定比例的摻雜以形成一水相溶液；

將該有機相混成溶液和該水相溶液在室溫下一起震盪，以形成一混合物；以及

在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，在該降溫過程之後，將一氣體打入該混合物，使該混合物自組裝而形成該複合磁性奈米超音波微泡，其中該氣體包括全氟化物 (Perfluoropentane, PFP, C_5F_{12})和六氟化硫(SF_6)的其中之一，該溫度敏感型高分子包括一普朗尼克(Pluronic)F68 和一普朗尼克 F127 的其中之一，該水溶性高分子包括一聚乙醯酸(Polyacrylic Acid, PAA)和一聚乙醯醇 (Polyvinyl alcohol, PVA)的其中之一，該有機溶劑包括一二氯甲烷，該磁性奈米粒子包括一四氧化三鐵 (Fe_3O_4)、一三氧化二鐵 (Fe_2O_3)、一鈷鐵氧化物 ($CoFe_2O_4$)、一錳鐵氧化物 ($MnFe_2O_4$) 和一氧化釷 (Gd_2O_3) 的其中之一。

2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，其中該複合磁性奈米超音波微泡更包括具有該磁性奈米粒子的一外殼，該外殼環繞於該複合磁性奈米超音波微泡之外部以形成一中空結構，該磁性奈米粒子的直徑介於 2 奈米至 15 奈米之間，該複合磁性奈米超音波微泡的直徑介於 150 奈米至 1000 奈米之間。

3. 如申請專利範圍第 1 項所述之方法，其中該升溫過程包括下列步驟：

將該混合物緩緩加熱到攝氏 29-32 度，攪拌約半小時，接著將該混合物加熱到攝氏 55-70 度，以便揮發該有機相混成溶液。

4. 一種使用申請專利範圍第 1 項所述之方法所合成的複合磁性奈米超音波微泡，其中該複合磁性奈米超音波微泡可作為超音波顯影劑。

5. 一種合成複合磁性奈米中空藥物載體之方法，包含下列步驟：

將一藥物與一磁性奈米粒子溶於一有機溶劑之中以形成一有機相混成溶液；

將一水溶性高分子和一溫度敏感型高分子溶解於水中以形成一水相溶液；

將該有機相混成溶液和該水相溶液一起震盪以形成一混合物；以及

在一溫度梯度之內，對該混合物先進行一升溫過程後再進行一降溫過程，使該混合物自組裝而形成該複合磁性奈米中空藥物載體，其中該溫度敏感型高分子包括一普朗尼克(Pluronic)F68 和一普朗尼克 F127 的其中之一，該水溶性高分子包括一聚乙醯酸(Polyacrylic Acid, PAA)和一聚乙醯醇 (Polyvinyl alcohol, PVA)的其中之一，該磁性奈米粒子包括一四氧化三鐵 (Fe_3O_4)、一三氧化二鐵 (Fe_2O_3)、一鈷鐵氧化物 (CoFe_2O_4)、一錳鐵氧化物 (MnFe_2O_4) 和一氧化釷 (Gd_2O_3) 的其中之一。

6. 如申請專利範圍第 5 項所述之方法，其中該藥物包括卡莫斯汀 (Carmustine) 和紫杉醇(paclitaxel)的其中之一。

7. 一種使用申請專利範圍第8項所述之方法所合成的藥物載體，其中當一聚焦超音波被施加到該藥物載體時，該藥物載體的結構被改變，進而釋放該藥物載體中的該藥物。

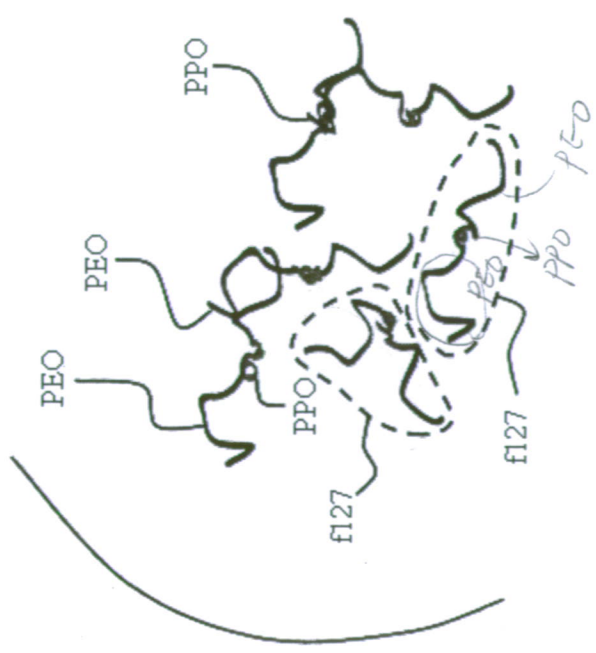


圖 1(a)



圖 1(b)



圖 1(c)

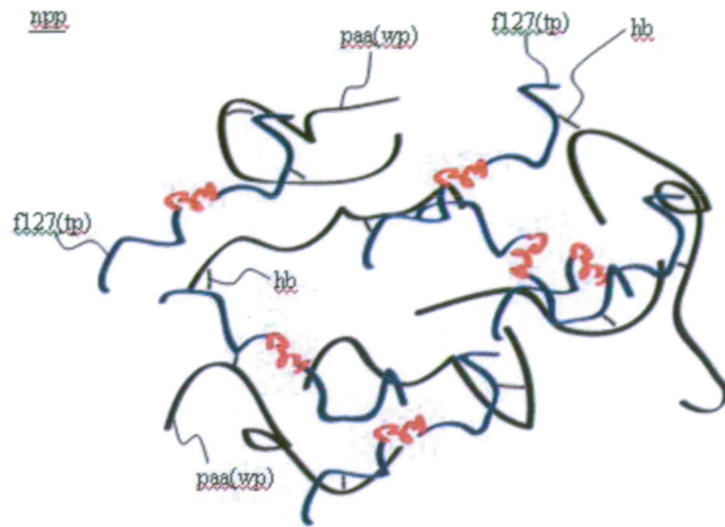


圖 2(a)

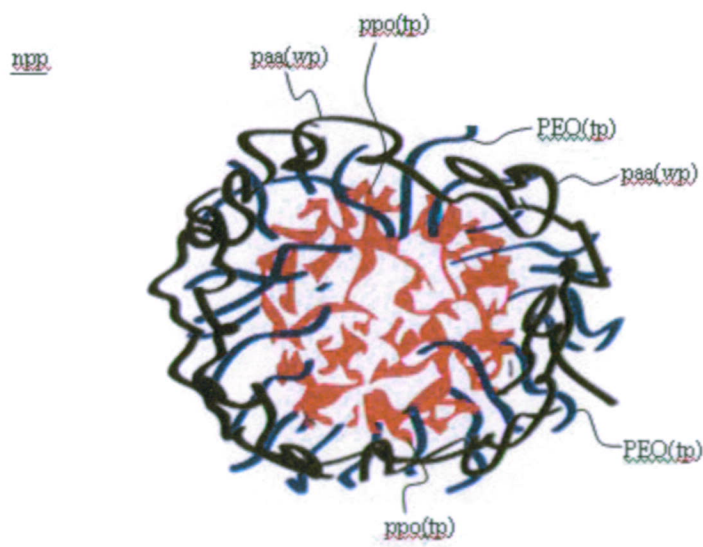


圖 2(b)

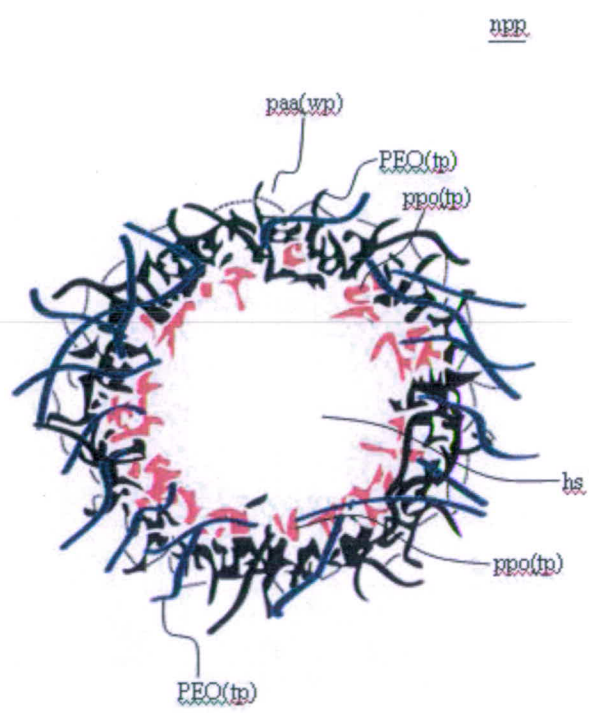


圖 2(c)

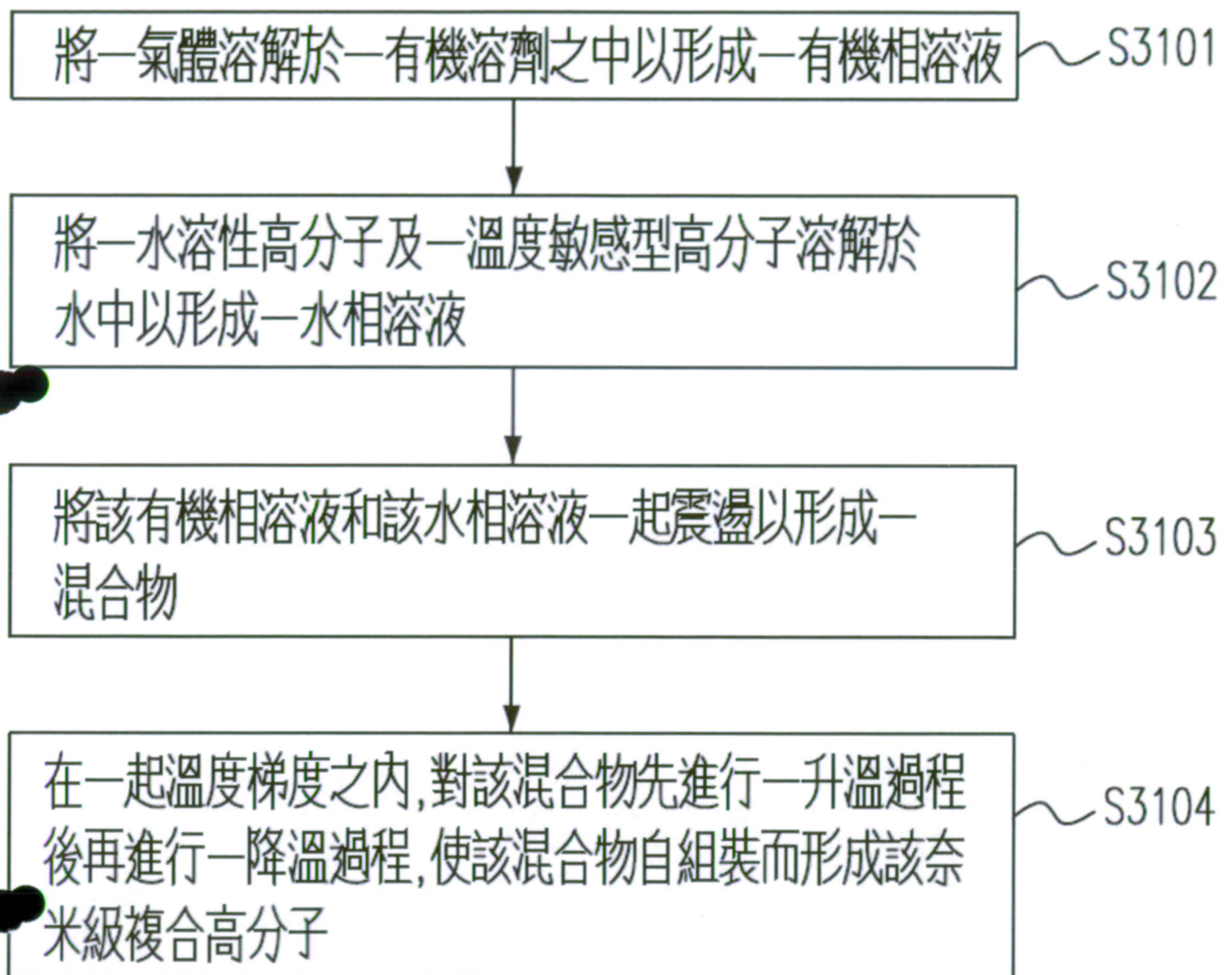


圖 3(a)

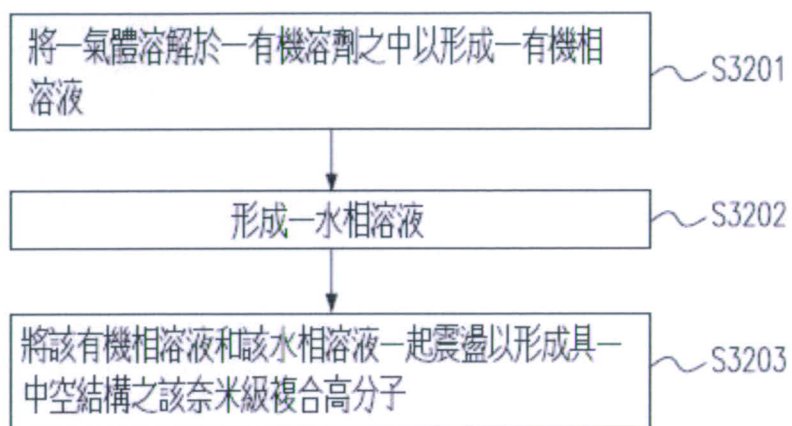


圖 3(b)

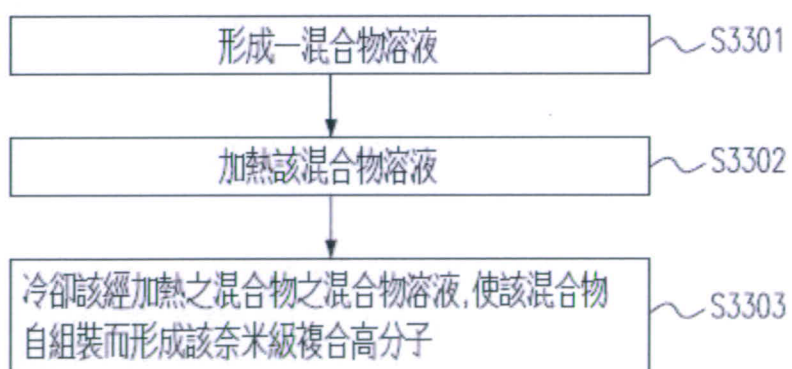


圖 3(c)

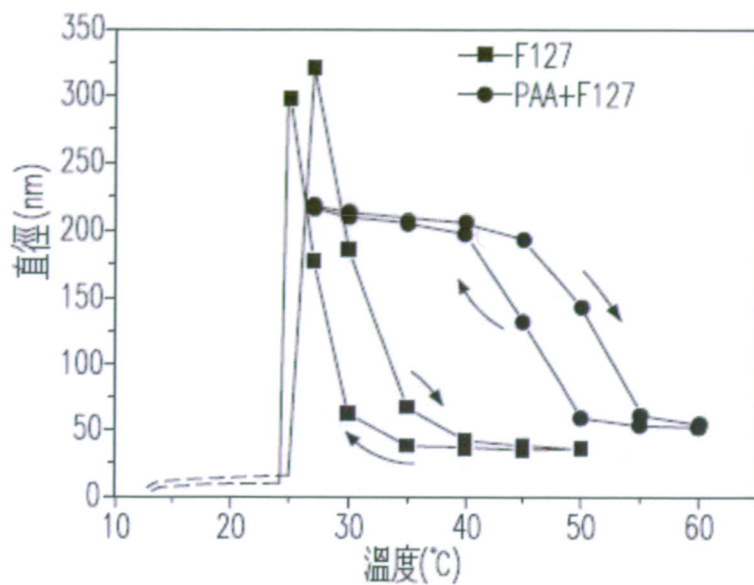


圖 4

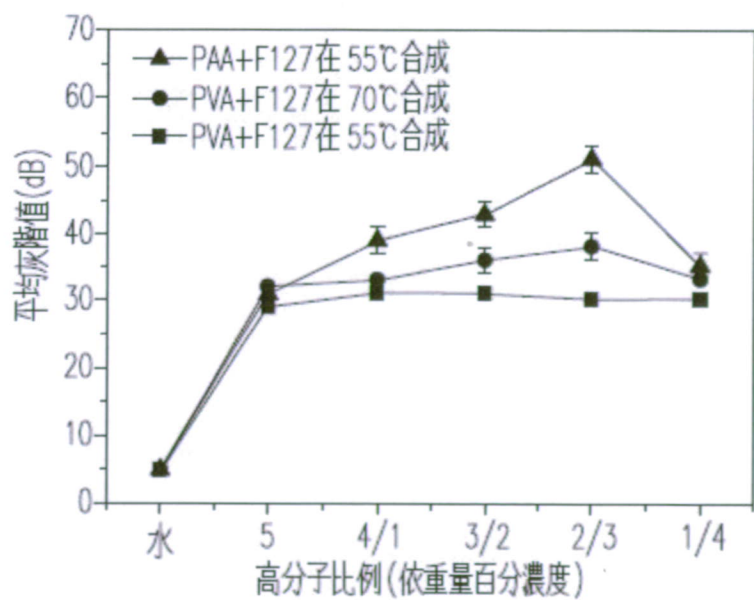


圖 5

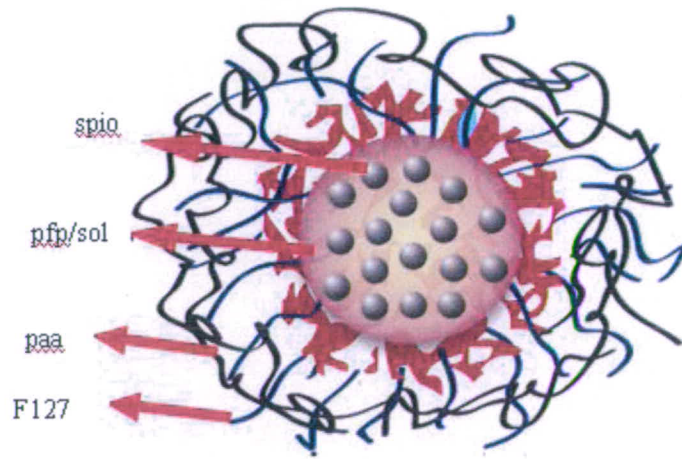


圖 6(a)

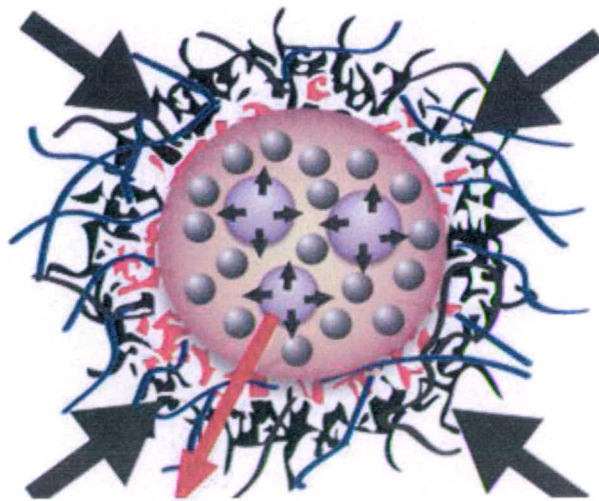


圖 6(b)

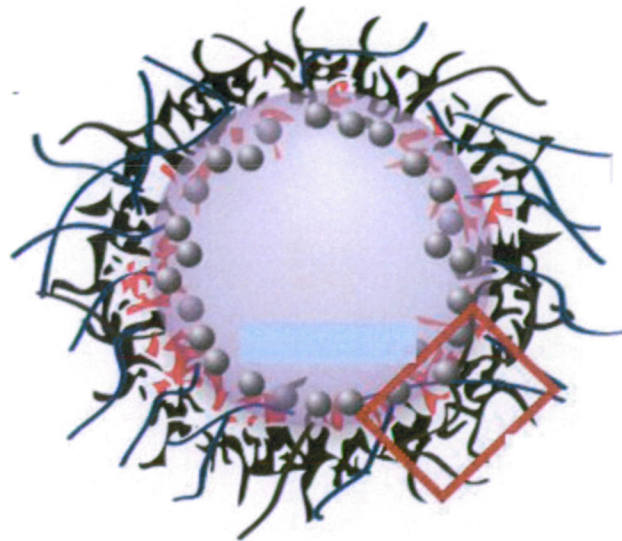


圖 6(c)

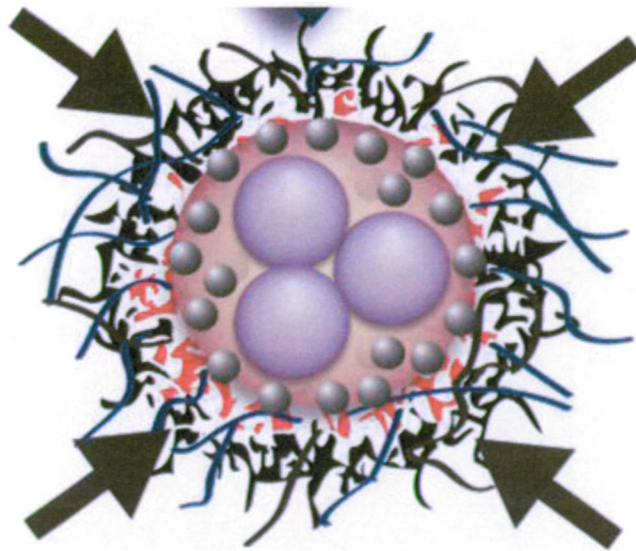


圖 6(d)

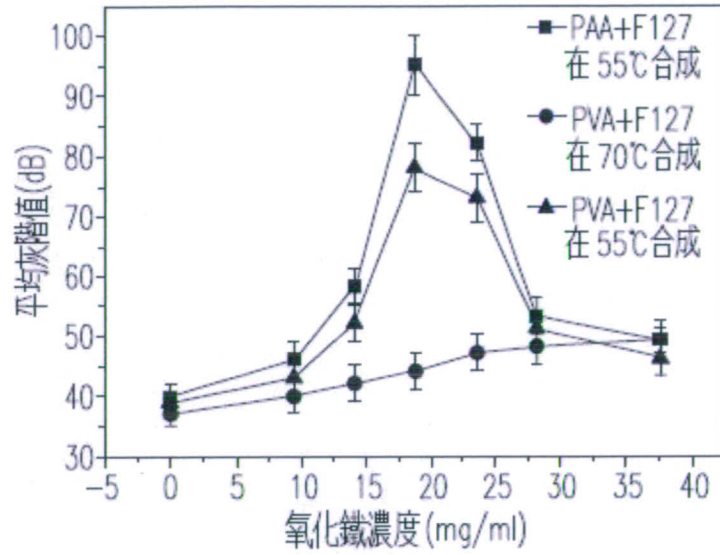


圖 7(a)

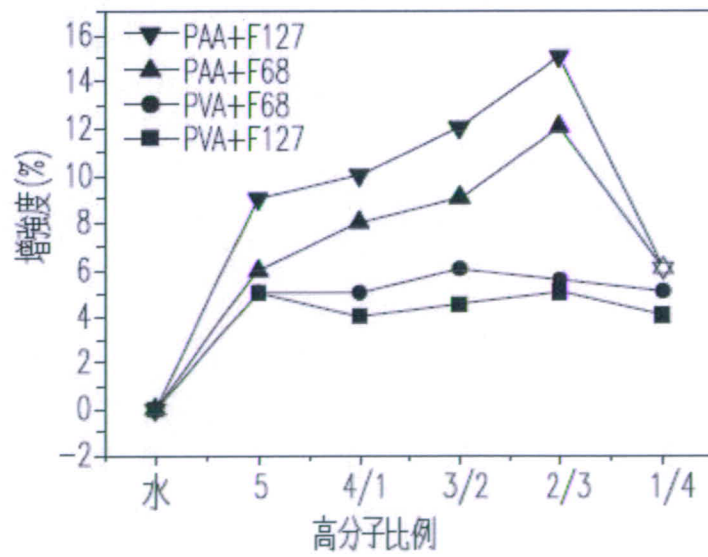
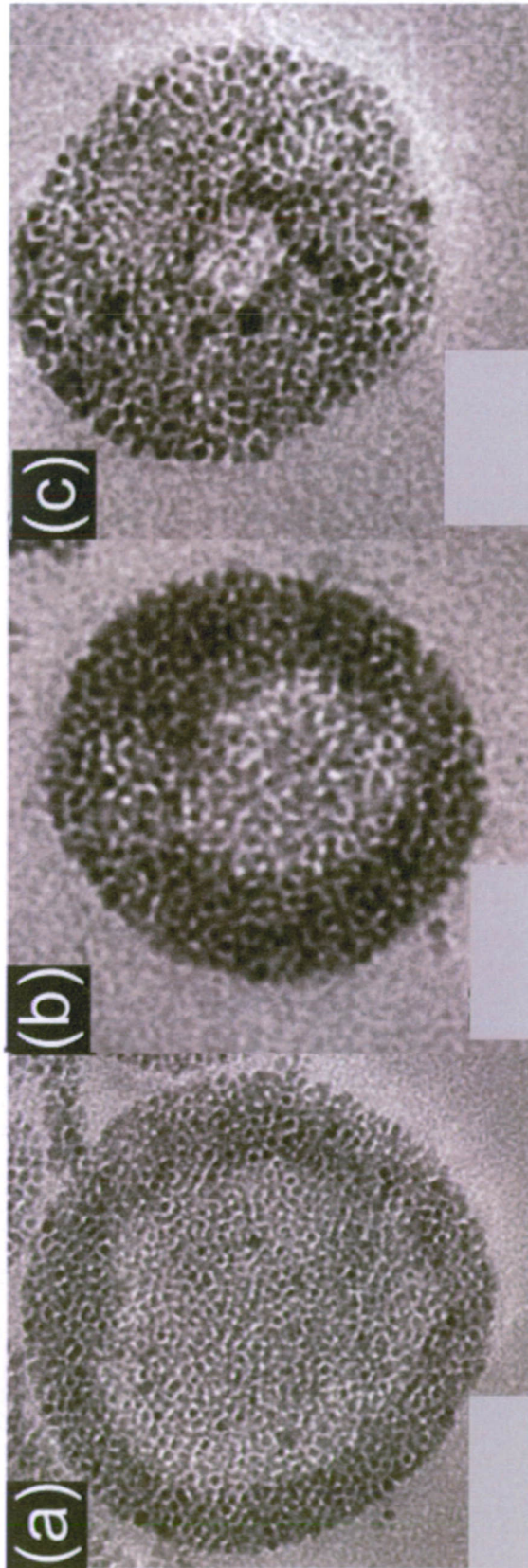


圖 7(b)



8

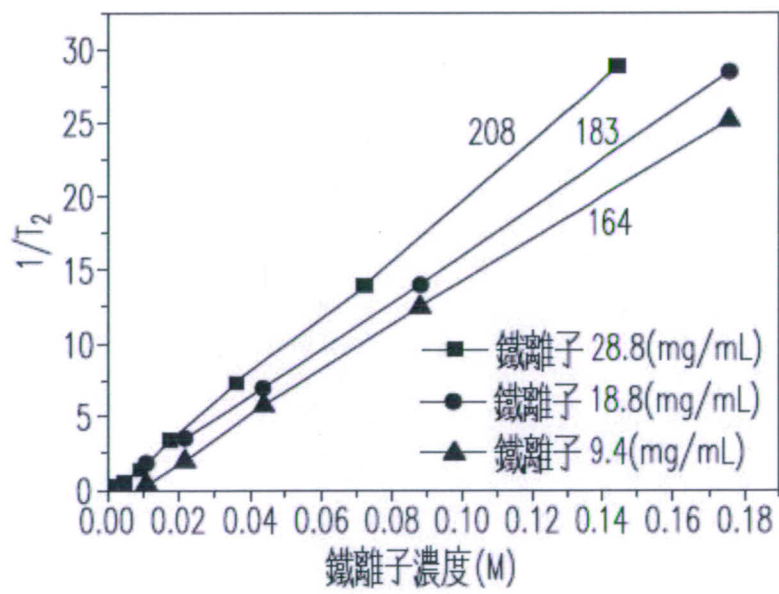


圖 9

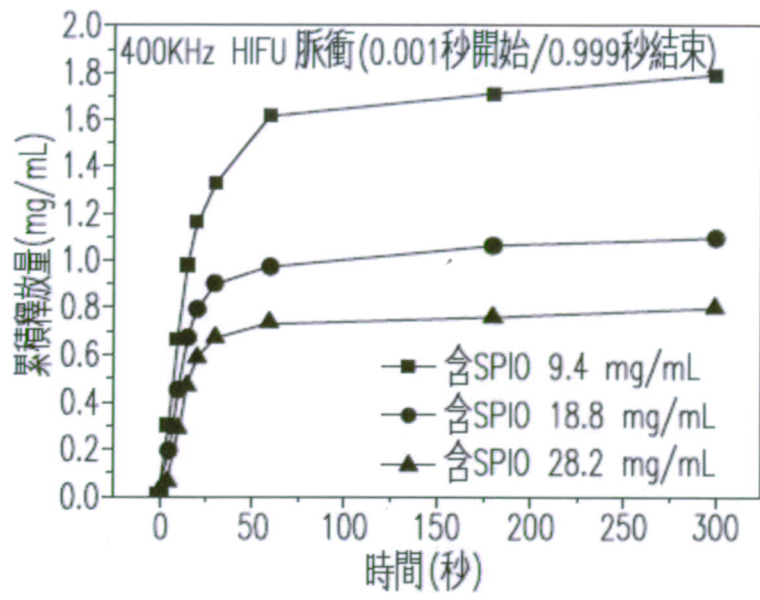


圖 10(a)

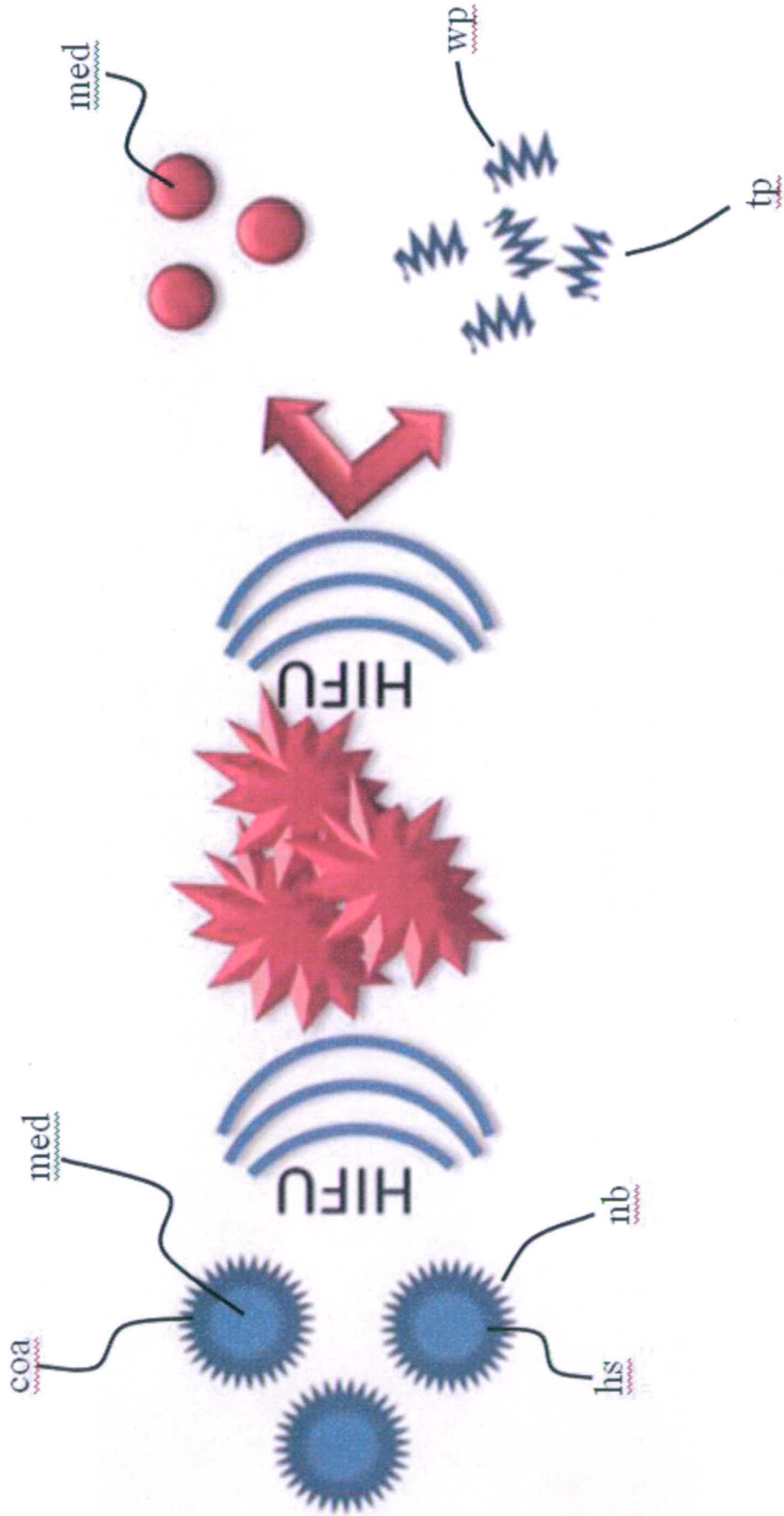


圖 10(b)

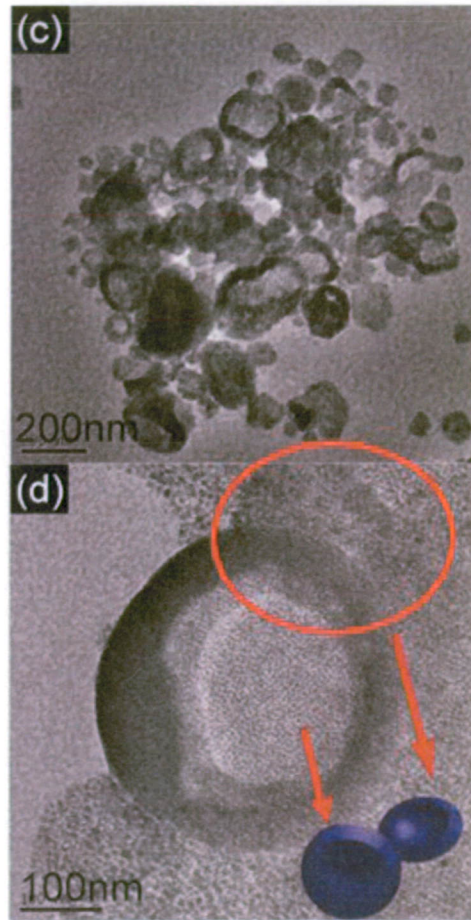


圖 10

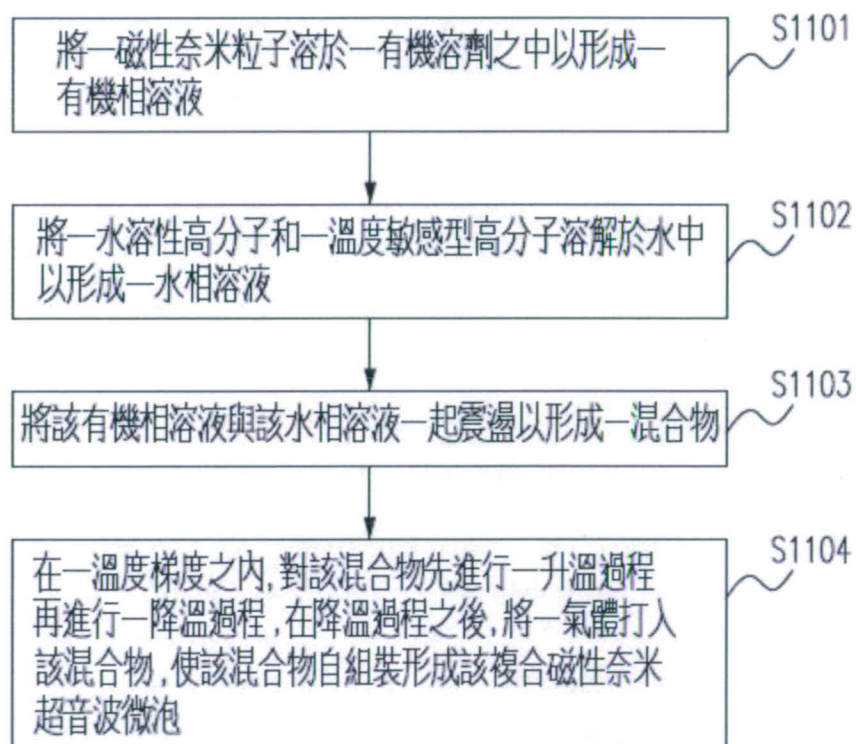


圖 11