



(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 201618756 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：103141523

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 11 月 28 日

(51)Int. Cl.：

A61K9/127 (2006.01)

A61K47/44 (2006.01)

A61K47/32 (2006.01)

A61K47/02 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

B82Y5/00 (2011.01)

B82B3/00 (2006.01)

B82Y40/00 (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)；蘇嘉偉 SU, CHIA WEI (TW)；陳鍵誼 CHEN, JIAN YI (TW)；顏靖書 YEN, CHING SHU (TW)

(74)代理人：蔡清福

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：17 共 44 頁

(54)名稱

具有可調控之親／疏水區域的複合奈米載體及其製造方法

COMPOSITE NANO-CARRIER HAVING A REGULATABLE HYDROPHILIC/HYDROPHOBIC AREA AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

(57)摘要

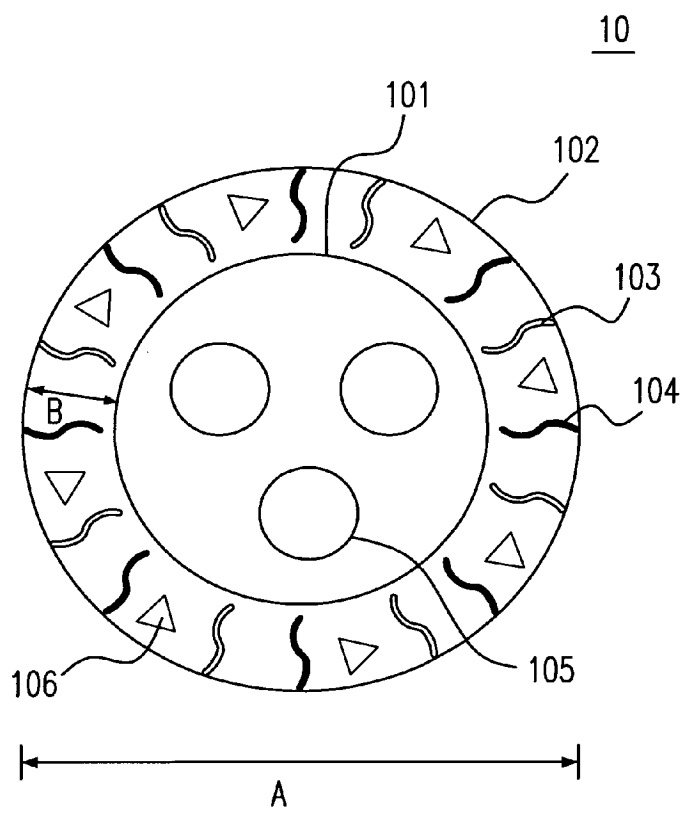
一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，包含一親水性藥物；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性藥物；一疏水性脂質；一聚乙烯醇 (poly(vinyl alcohol), PVA)；以及一氧化鐵奈米粒子，其中該初始殼厚度及該水相內核的體積係藉由該聚乙烯醇與該氧化鐵奈米粒子的濃度來調控，且該疏水性藥物的含量及該親水性藥物的含量係取決於該初始殼厚度及該水相內核的體積。

A nano-carrier is provided. The nano-carrier has a carrier outer diameter, and comprises an aqueous phase inner core comprising a hydrophilic drug; and an oil phase outer shell layer having an initial thickness of the shell layer and covering the aqueous phase inner core. The oil phase outer shell layer comprises a hydrophobic drug; a hydrophobic lipid; a poly (vinyl alcohol) (PVA); and an iron oxide nanoparticle, wherein the initial thickness of the shell layer and the volume of the aqueous phase inner core are regulated by the concentration of the poly (vinyl alcohol) and the iron oxide nanoparticle, and the content of the hydrophobic drug and that of the hydrophilic drug depend on the initial thickness of the shell layer and the volume of the aqueous phase inner core.

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 10 . . . 奈米載體
- 101 . . . 水相內核
- 102 . . . 油相外殼層
- 103 . . . 疏水性脂質
- 104 . . . 水溶性高分子
- 105 . . . 親水性藥物
- 106 . . . 疏水性藥物
- A . . . 載體外徑
- B . . . 初始殼厚度



第一圖

發明摘要

※ 申請案號：103141573

※ 申請日：103.11.28

※ IPC 分類：

A61K9/127(2006.01)
A61K47/44(2006.01)
A61K47/32(2006.01)
A61K47/02(2006.01)
A61P35/00(2006.01)
B82Y5/00(2011.01)
B82B3/00(2006.01)
B82Y40/00(2011.01)

【發明名稱】(中文/英文)

具有可調控之親/疏水區域的複合奈米載體及其製造方法

Composite Nano-carrier having a Regulatable Hydrophilic/Hydrophobic Area
and Manufacturing Method thereof

【中文】

一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，包含一親水性藥物；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性藥物；一疏水性脂質；一聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)；以及一氧化鐵奈米粒子，其中該初始殼厚度及該水相內核的體積係藉由該聚乙烯醇與該氧化鐵奈米粒子的濃度來調控，且該疏水性藥物的含量及該親水性藥物的含量係取決於該初始殼厚度及該水相內核的體積。

【英文】

A nano-carrier is provided. The nano-carrier has a carrier outer diameter, and comprises an aqueous phase inner core comprising a hydrophilic drug; and an oil phase outer shell layer having an initial thickness of the shell layer and covering the aqueous phase inner core. The oil phase outer shell layer comprises a hydrophobic drug; a hydrophobic lipid; a poly (vinyl alcohol)

(PVA); and an iron oxide nanoparticle, wherein the initial thickness of the shell layer and the volume of the aqueous phase inner core are regulated by the concentration of the poly (vinyl alcohol) and the iron oxide nanoparticle, and the content of the hydrophobic drug and that of the hydrophilic drug depend on the initial thickness of the shell layer and the volume of the aqueous phase inner core.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

10 奈米載體

101 水相內核

102 油相外殼層

103 疏水性脂質

104 水溶性高分子

105 親水性藥物

106 疏水性藥物

A 載體外徑

B 初始殼厚度

【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)

具有可調控之親/疏水區域的複合奈米載體及其製造方法

Composite Nano-carrier having a Regulatable Hydrophilic/Hydrophobic Area
and Manufacturing Method thereof

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種載體及其製造方法，尤指一種奈米載體及其製造方法。

【先前技術】

【0002】 根據統計，在我國，截至2012年為止，連續31年癌症蟬聯十大死因之首，平均每100人中，就有28人是死於癌症；而在美國，癌症也列居十大死因的第二名，僅次於心血管疾病。且根據統計，在美國每年死於癌症的病患高達58萬名，平均每天有1555名病患死於癌症。因此，不論在美國或是台灣，癌症治療與藥品的開發均為今日研究的首要目標。而美國食品藥物管理局(Food and Drug Administration, FDA)在2012年所批准的39個新藥中，其中就包含了12項抗癌藥物，可見抗癌藥物發展的急迫性。從IMS Health的統計資料可得知，2009年全球抗癌藥物市場為524億元，成長率為9%，占全球藥物市場的7%，而全球目前約有2608件抗癌新藥正在開發中，顯示了抗癌藥物為目前各藥廠開發主要目標之一。

【0003】 目前市面上已有許多微米級之抗癌藥物載體，但微米級之藥

物載體由於其尺寸，不易進入腫瘤細胞產生作用，在應用上受到相當大的限制。

【0004】 自1965年英國劍橋Babraham Insitute 的Alec Bangham首先發現微脂體(Liposome)後，微脂體一直被認為是載運藥物的理想劑型。然而，近年來的研究發現，癌細胞對於單一藥物的治療系統，往往到後期會有產生抗藥性的情況出現，導致在治療後期抗癌藥物的施打量不斷增加，但是對於兩種或是以上的藥物治療，卻發現癌細胞的抗藥性發展機率大幅降低，且可減少施用的藥量，較單一藥物治療有更顯著的抑制功效，因此多重藥物的同時標靶性治療成為當今最具有發展性的領域。

【0005】 但是，目前在市面上的藥物載體並沒有包覆兩種以上藥物的能力，更無法調控殼層厚度以進一步控制載體的包藥比例以及藥物釋放速度，來適用於臨床上基於不同疾病與病人個體差異之不同藥物及藥量的需求。有鑑於此，開發出可調整藥量的多重藥物載體成為當務之急。

【發明內容】

【0006】 本發明之一面向係提供一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，包含一親水性藥物；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性藥物；一疏水性脂質；一聚乙炔醇(poly(vinyl alcohol), PVA)；以及一氧化鐵奈米粒子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該聚乙炔醇與該氧化鐵奈米粒子的濃度來調控，且該疏水性藥物的含量及該親水性藥物的含量係取決於該初始殼厚度及該水相內核的體積。

【0007】 本發明之另一面向係提供一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性脂質；以及一水溶性高分子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該水溶性高分子的濃度來調控。

【0008】 本發明之又一面向係提供一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，具一初始核直徑；一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及一合成調控劑，決定該初始殼厚度。

【0009】 本發明之再一面向係提供一種製造一奈米載體之方法，其中該奈米載體具一載體外徑，該方法包含：形成一水相內核，其中該水相內核具一初始核直徑；於該水相內核表面，形成一油相外殼層，其中該油相外殼層具一初始殼厚度，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及於形成該水相內核及形成該油相外殼層之間，添加一合成調控劑，用以決定該初始殼厚度。

【圖式簡單說明】

【0010】

第一圖顯示本發明之第一實施例之奈米載體。

第二圖顯示本發明之第二實施例之奈米載體。

第三圖顯示本發明之第三實施例之奈米載體。

第四圖顯示本發明之第四實施例之製造奈米載體之方法。

第五圖(a)顯示本發明之可控制殼層厚度的中空結構之奈米載體之製備過程。

第五圖(b)顯示本發明之可控制殼層厚度的中空結構之奈米載體之製備過程。

第六圖顯示在穿透式電子顯微鏡下，不同聚乙烯醇濃度比例下形成之SLS載體結構。

第七圖顯示太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)與阿黴素(Doxorubicin, DOX)在SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60中的包覆率。

第八圖顯示本發明之奈米載體脂質殼層厚度對酵素降解的反應，由左至右為SLS-10、SLS-30、SLS-45以及SLS-60均與溶酶體酸脂酶反應12小時後以穿透式電子顯微鏡拍攝之圖片。

第九圖顯示本發明之奈米載體SLS-10、SLS-30、SLS-45及SLS-60於37°C下與溶酶體酸脂酶反應形成的脂肪酸量與時間的關係圖。

第十圖(a)顯示本發明之SLS-10、SLS-30、SLS-45以及SLS-60在包覆PTX與DOX後，於37°C下與溶酶體酸脂酶反應，PTX在不同時間點的累積釋放量。

第十圖(b)顯示本發明之SLS-10、SLS-30、SLS-45以及SLS-60在包覆PTX與DOX後，於37°C下與溶酶體酸脂酶反應，DOX在不同時間點的累積釋放量。

第十一圖顯示PTX與DOX在不同莫耳濃度比例下(PTX:DOX = 1:2, 2:1, 3:1與4:1)的IC₅₀值。

第十二圖顯示本發明之SLS-10、SLS-30、SLS-45以及SLS-60同時包覆PTX與DOX進行細胞毒性測試(MTT assay)所測得之 IC_{50} 值。

第十三圖顯示在穿透式電子顯微鏡下，以單硬脂酸甘油酯取代甘油三軟脂酸酯，不同聚乙烯醇濃度比例下形成之SLS載體結構。

第十四圖顯示二氯二氨鉑在SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60中的包覆率。

第十五圖顯示多烯紫杉醇在SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60中的包覆率。

第十六圖顯示在穿透式電子顯微鏡下，不同聚乙烯醇：氧化鐵的濃度比例下形成之SLS載體結構。

第十七圖顯示奈米氧化鐵粒子(IO)、SLS-IO30、SLS-IO50的磁滯曲線。

【實施方式】

【0011】 有關本發明之技術內容、特點及功效，藉由以下較佳實施例的詳細說明將可清楚的呈現。

【0012】 請參閱第一圖，其顯示本發明之第一較佳實施例之奈米載體10。該奈米載體10具一載體外徑A，並包含一水相內核101以及一油相外殼層102，該油相外殼層102具一初始殼厚度B，並包覆該水相內核101，且該油相外殼層102包含一疏水性脂質103以及一水溶性高分子104，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度B及該水相內核101的體積的相對大小，係可藉由該水溶性高分子104的濃度來調控。

【0013】 該奈米載體10之該載體外徑A為奈米等級，例如可為

100nm~400nm。該油相外殼層的該初始殼厚度B可為10nm~100nm。該水相內核101可包含一親水性藥物105，該親水性藥物105可為阿黴素(Doxorubicin, DOX)或二氯二氨鉑(Cisplatin)。該油相外殼層102可更包含一疏水性藥物106，該疏水性藥物106可為太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)或多烯紫杉醇(Docetaxel)。該疏水性脂質103可為甘油三軟脂酸酯(Glycerol tripalmitate)或單硬脂酸甘油酯(Glycerol monostearate)，且該疏水性脂質103的濃度可為1~5%(w/v)。該水溶性高分子104可為聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)或其他性質相近之水溶性高分子。該水溶性高分子104的濃度可為0.5%~5%(w/v)，該水溶性高分子104的濃度決定該初始殼厚度B，當該奈米載體10之該載體外徑A相近時，該初始殼厚度B越大，而該水相內核101的體積則越小。

【0014】 請參閱第二圖，其顯示本發明之第二實施例之奈米載體20。該奈米載體20具一載體外徑C，並包含一水相內核201以及一油相外殼層202，該水相內核201包含一親水性藥物205；該油相外殼層202具一初始殼厚度D，並包覆該水相內核201，且該油相外殼層202包含一疏水性藥物206、一疏水性脂質203、一聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)204以及一氧化鐵奈米粒子207，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度D及該水相內核201的體積的相對大小，係可藉由該聚乙烯醇204與該氧化鐵奈米粒子207的濃度來調控，且該疏水性藥物206的含量及該親水性藥物205的含量係取決於該初始殼厚度D及該水相內核的體積。

【0015】 該奈米載體20之該載體外徑C為奈米等級，例如可為100nm~400nm。該油相外殼層202的該初始殼厚度D可為10nm~100nm。該

親水性藥物205可為阿黴素(Doxorubicin)或二氯二氨鉑(Cisplatin)。該疏水性藥物206可為太平洋紫杉醇(Paclitaxel)或多烯紫杉醇(Docetaxel)。該疏水性脂質203可為甘油三軟脂酸酯(Glycerol tripalmitate)或單硬脂酸甘油酯(Glycerol monostearate)，且該疏水性脂質203的濃度可為1~5%(w/v)。該聚乙烯醇204的濃度可為0.5%~5%(w/v)。當該奈米載體20之該載體外徑C相近時，該初始殼厚度D越大，而該水相內核的體積則越小。

【0016】 請參閱第三圖，其顯示本發明之第三實施例之奈米載體30。該奈米載體30具一載體外徑E，並包含一水相內核301及一油相外殼層302。該水相內核301具一初始核直徑G。該油相外殼層302具一初始殼厚度F，並包覆該水相內核301，其中該載體外徑E具有一相同或近似尺度，且該載體外徑E等於該初始核直徑G及兩倍該初始殼厚度F之和。且一合成調控劑304決定該初始殼厚度F。

【0017】 該奈米載體30之該載體外徑E為奈米等級，例如可為100nm~400nm。該油相外殼層302的該初始殼厚度F可為10nm~100nm。該合成調控劑304可為一水溶性高分子，該水溶性高分子可為聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮或其他性質相近之水溶性高分子。該合成調控劑304的濃度可為0.5%~5%(w/v)，該合成調控劑304的濃度決定該初始殼厚度F，當該奈米載體30之該載體外徑E相近時，該初始殼厚度F越大，而該水相內核的體積則越小。

【0018】 請參閱第四圖，其顯示本發明之第四實施例之製造奈米載體之方法，其中該奈米載體具一載體外徑，該方法包含：形成一水相內核(步驟401)，其中該水相內核具一初始核直徑；於該水相內核表面，形成一油相

外殼層(步驟403)，其中該油相外殼層具一初始殼厚度，該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及於形成該水相內核及形成該油相外殼層之間，添加一合成調控劑(步驟402)，用以決定該初始殼厚度。

【0019】 上述步驟401中形成該水相內核的方法可為先製備一水溶液做為內水相(W_{in})，該水溶液可添加一水溶性高分子，該水溶性高分子可為聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)、聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)或其他性質相近之水溶性高分子。該水溶液亦可添加一疏水性脂質，該疏水性脂質可進一步穩定該油相外殼層之結構。該疏水性脂質可為甘油三軟脂酸酯(Glycerol tripalmitate)或單硬脂酸甘油酯(Glycerol monostearate)，且該疏水性脂質的濃度可為1~5%(w/v)。該水溶液亦可添加一親水性藥物及一疏水性藥物，該親水性藥物可為阿黴素(Doxorubicin)或二氯二氨鉑(Cisplatin)，而該疏水性藥物可為太平洋紫杉醇(Paclitaxel)或多烯紫杉醇(Docetaxel)。首先，將該水溶液加入一有機溶液中，該有機溶液中含有一有機溶劑，該有機溶劑可為氯仿(Chloroform)、二氯甲烷(Dichloromethane)、丙酮(acetone)、甲醇(methanol)、乙醚(ether)或其他性質相近之溶劑，例如氯仿(Chloroform)及乙醚(ether)溶液(1:1)。接著，將該水溶液及該有機溶液的混合溶液進行第一次乳化。進行第一次乳化可藉由混合攪拌，而混合攪拌可經由超音波震盪器來進行。該有機溶液的體積可大於該水溶液，而第一次乳化後形成該水相內核。

【0020】 步驟402之添加該合成調控劑所用的方法可為在形成該水相內核後，在含有該水相內核之第一次乳化後的溶液加入包含該合成調控劑

之水溶液。該包含該合成調控劑之水溶液係做為外水相(W_{out})，以進行第二次乳化，以形成該油相外殼層(步驟403)。該合成調控劑可為水溶性高分子，該水溶性高分子可為聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮或其他性質相近之水溶性高分子。該合成調控劑的濃度可為0.5%~5%(w/v)，該合成調控劑的濃度決定該初始殼厚度，當該奈米載體之該載體外徑相近時，該初始殼厚度越大，而該水相內核的體積則越小。

【0021】 形成該油相外殼層後，移除該有機溶劑。移除該有機溶劑可經由旋轉式真空蒸發儀(rotary vacuum evaporator)來進行。移除該有機溶劑後洗去多餘的合成調控劑。洗去多餘的合成調控劑可經由以離心機離心來進行。所製造之該奈米載體之該載體外徑為奈米等級，例如可為100nm~400nm，而該油相外殼層的該初始殼厚度可為10nm~100nm。

【0022】 根據本發明之一實施例，在上述製造一奈米載體之方法中，在該做為內水相(W_{in})的該水溶液更添加一順磁性奈米粒子，該順磁性奈米粒子較佳為 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 、 $CoFe_2O_4$ 、 $MnFe_2O_4$ 或 Gd_2O_3 奈米粒子，更佳為氧化鐵奈米粒子。

【0023】 本發明之奈米載體的水相內核可包覆親水性物質，例如親水性藥物，而油相外殼層可包覆疏水性物質，例如疏水性藥物。此種特性使得疏水性藥物與親水性藥物可同時存在於該奈米載體中，具有包覆兩種以上藥物的能力。因此，本發明之奈米載體做為多重藥物載體用於癌症的治療，可大幅降低癌細胞產生抗藥性的機率，且可減少施用的藥量，較單一藥物載體有更顯著的抑制功效。

【0024】 有別於市面上之藥物載體無法調控殼層厚度，本發明之奈米

載體之初始殼厚度能夠被調控，且水相內核的體積亦可被調控，因此本發明之奈米載體能夠控制疏水性藥物及親水性藥物的含量及比例。而且，本發明之奈米載體不會因為初始殼厚度及水相內核的體積的改變而導致其載體外徑大幅改變。換言之，本發明之奈米載體能夠在具有不同的初始殼厚度及水相內核的體積的情形下，具有相同或近似的載體外徑。由於初始殼厚度的不同，還能夠調控載體之降解速度，進而控制藥物釋放速度與細胞毒性，來適用於臨床上基於不同疾病與病人個體差異之不同藥物及藥量的需求。由於在每一種不同癌症的治療上，藥物的劑量是一個棘手的課題，每個癌症病患都是獨立的個體，在藥物的施打或服用劑量上必定得斤斤計較。本發明之奈米載體特有之可調控性，對於臨床上的應用有著極大的獨立性與活用性。在藥廠與醫院方面，可以利用此載體的特性開發出個人化的藥物配套措施，對於每一個不同病患的病況、癌症種類、體質、作息、飲食習慣、家族遺傳史…等等可能影響療程的因素進行個人化的設計，能夠提供病患更自由且更人性化的配套療程。

【0025】 由於該油相外殼層包含疏水性脂質，不但可使本發明之奈米載體更加穩定，且該疏水性脂質可被酵素例如溶酶體酸脂酶(lysosomal acid lipase)降解，因此利用其酵素降解之特性，可控制其在運送到目標前不會輕易降解，因而可降低運送過程中的損失，且可調控載體之降解速度。

【0026】 本發明之奈米載體在治療癌症上具有增強滲透及滯留(Enhanced Permeability and Retention, EPR)的效應，亦即癌細胞在不正常增生時，由於需要大量的血液流通以供給大量增生所需的養分，因此癌細胞會分泌促進血管新生的生長因子。然而，由於細胞不正常增生，加上內皮

細胞排列不緊密，會造成在癌細胞附近的血管壁結構鬆散而產生通透性高的孔隙，依不同種類的範圍可自100nm~780nm之間，而一般正常血管有緊密的蛋白連結(tight junction)，通透的孔洞只有5~10nm，因此本發明之奈米載體能夠增加藥物進入腫瘤細胞的機率，而減少對正常細胞的影響。目前市面上治療癌症之微米級的藥物載體並不具有EPR效應，因此本發明之奈米載體比微米級藥物載體更能順利的進入癌細胞，治療上有顯著的優勢。

【0027】 由於本發明之奈米載體具有順磁性奈米粒子，例如氧化鐵奈米粒子，在製造過程中，透過不同濃度比例的合成調控劑(水溶性高分子)與順磁性奈米粒子(氧化鐵奈米粒子)混合，相較於只有合成調控劑(水溶性高分子)時，不但可進一步調控初始殼厚度及水相內核的體積，且其具有可藉由外部磁場操控之特性，因此可外加磁場來引導載體聚集於欲作用處，對患部進行標靶性的治療。此外，外加磁場會生熱，因此亦可達到熱療的作用，也可藉由加熱破壞油相外殼層而控制藥物的釋放。再者，本發明之奈米載體亦可做為核磁共振造影之顯影劑。

【0028】 綜合以上的優點，本發明之奈米載體不僅是多重藥物治療的優秀平台，並且在個人化藥物治療上有著龐大的發展潛力與可能性，比現今市面上之藥物載體更具有臨床應用價值。

【0029】 實驗例

【0030】 實驗例1：

【0031】 如第五圖(a)所示，先製備100 μ L包含阿黴素(Doxorubicin, DOX)的(w/v)聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)水溶液做為內水相(W_{in})，接著將其加入1mL含有太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)之溶有10mg甘油三軟脂

酸酯(Glycerol tripalmitate)的氯仿(Chloroform)及乙醚(ether)溶液(1:1)中，並將此混合溶液以40W的超音波震盪器進行第一次乳化。

【0032】 然後，將第一次乳化得到之溶液加入不同濃度的3mL聚乙烯醇(濃度範圍1~4%)水溶液做為外水相(W_{out})進行第二次乳化，以形成水/油/水(W/O/W)包覆形式的載體。

【0033】 將第二次乳化得到之溶液利用旋轉式真空蒸發儀(rotary vacuum evaporator)移除氯仿及乙醚，從而得到析出而穩定分散於水溶液中的載體。之後，再用離心機以8000rpm的轉速進行離心，洗去多餘的聚乙烯醇，最後蒐集於5mL的去離子水中。

【0034】 實驗例2：

【0035】 如第五圖(b)所示，先製備100 μ L包含阿黴素(Doxorubicin, DOX)的(w/v)聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)水溶液做為內水相(W_{in})，接著將其加入1mL含有太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)及不同濃度之氧化鐵(iron oxide)奈米粒子(濃度範圍0.25~0.5%)之溶有10mg甘油三軟脂酸酯(Glycerol tripalmitate)的氯仿(Chloroform)及乙醚(ether)溶液(1:1)中，並將此混合溶液以40W的超音波震盪器進行第一次乳化。

【0036】 然後，將第一次乳化得到之溶液加入不同濃度的3mL聚乙烯醇(濃度範圍1~4%)水溶液做為外水相(W_{out})進行第二次乳化，以形成水/油/水(W/O/W)包覆形式的載體。

【0037】 將第二次乳化得到之溶液利用旋轉式真空蒸發儀(rotary vacuum evaporator)移除氯仿及乙醚，從而得到析出而穩定分散於水溶液中的載體。之後，再用離心機以8000rpm的轉速進行離心，洗去多餘的聚乙烯

醇，最後蒐集於5mL的去離子水中。

【0038】 實驗例3：

【0039】 請參閱表一。表一所示之數據為以實驗例1的方法，使用四種不同濃度(1%、2%、3% 及4%)之聚乙烯醇製作出的固體脂質球體(solid lipid sphere, SLS)載體的平均粒子大小、多分散性指數(polydispersity index, PDI)、殼層厚度以及表面電位(Zeta Potential)。當聚乙烯醇濃度從1%增加至4%時，脂質層從11.6nm增厚至62.5nm，然而平均粒子大小並未增加，因此內部水相的體積減少。由此發現提高聚乙烯醇的濃度，載體具有脂質外殼層變厚且內部親水核縮小的趨勢。此項結果顯示外部水相(W_{out})聚乙烯醇濃度在殼層厚度以及內部水相的體積上扮演關鍵性的角色。另如第六圖所示，將上述四組以不同濃度之聚乙烯醇合成的載體在高解析穿透式電子顯微鏡(Transmission Electron Microscopy, TEM)下拍攝載體結構，其載體大小與殼層厚度的趨勢與表一相符。

表一： SLS 在不同濃度聚乙烯醇下的平均粒子大小、多分散性指數、殼層厚度及表面電位

	聚乙烯醇在 外水相中的 濃度(%)	平均粒子大小(nm)	多分散性指數 (PDI)	殼層厚度 (nm)	表面電位 (Zeta Potential) (mV)
I	1	178.7 ± 9.6	0.183 ± 0.055	11.6 ± 3.9	1.6 ± 0.5
II	2	167.6 ± 8.6	0.215 ± 0.084	30.7 ± 8.8	0.7 ± 0.8
III	3	161.4 ± 5.5	0.145 ± 0.034	44.0 ± 9.7	3.4 ± 1.2
IV	4	155.9 ± 6.9	0.194 ± 0.074	62.5 ± 13.3	2.5 ± 0.3

【0040】 實驗例4：

【0041】 如第七圖所示，爲了進行不同殼層厚度載體的藥物相關測試，將實驗例3所製作之11.6nm、30.7nm、44.0nm、62.5nm這四組不同脂質層厚度的載體各標示爲SLS-10、SLS-30、SLS-45及SLS-60，並在載體合成的過程中，於油相與內部水相分別包覆太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)與阿黴素(Doxorubicin, DOX)，測試四種不同脂質殼層厚度載體的藥物包覆率。從第七圖所顯示的包覆率結果，可看出當載體的脂質層厚度增加，包覆於殼層中的PTX藥物含量隨之增加。同時，由於內部的水相核縮小，包覆於核中的DOX藥物含量亦隨之下降，這是因爲載體的脂質層具有可被酵素降解的特性。

【0042】 實驗例5：

【0043】 如第八圖所示，將載體SLS-10、SLS-30、SLS-45及SLS-60與脂質酵素溶酶體酸脂酶(lysosomal acid lipase, LAL)溶液共同培養12小時以模擬細胞內載體降解的速度。第八圖顯示SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60經過降解後的TEM圖片，由圖可看出脂質殼層較厚的SLS-45與SLS-60的內部水相核仍維持完整，脂質殼層則只有些微降解；而SLS-10與SLS-30均可看見脂質殼層被脂質酵素大量的分解，脂質殼層呈現鬆散的結構。

【0044】 實驗例6：

【0045】 如第九圖所示，測量實驗例5中載體SLS-10、SLS-30、SLS-45及SLS-60被脂質酵素溶酶體酸脂酶降解後形成的脂肪酸量，並作成降解速度與時間的關係圖，結果和第八圖在TEM下所觀察到的現象相同。透過調整脂質層分解的速度，可以在藥物釋放上進行人爲的調控。

【0046】 實驗例7：

【0047】 請參閱第十圖，在同時包覆PTX與DOX的載體進行溶酶體酸脂酶降解時，進行PTX與DOX兩種藥物的累積釋放測試，從圖中可看出SLS-10的PTX累積釋放量在12小時內就超過60%，這是因為較薄的脂質層分解速度較快；而在同一時間點，PTX累積釋放量隨著厚度的增加而降低。另一方面，從圖中可看出DOX的累積釋放雖呈現和PTX類似的趨勢，但隨著殼層厚度的不同卻有著0~10小時釋放速度的延遲。這延遲的門檻間接顯示在脂質層降解後才會進行DOX的釋放。

【0048】 實驗例8：

【0049】 請參閱第十一圖，在載體包覆不同莫耳濃度比例之PTX與DOX的情形下($PTX : DOX = 1:2, 2:1, 3:1$ 與 $4:1$)，使用MCF-7/ADR細胞，藉由細胞毒性試驗(MTT assay)測得其 IC_{50} 值，其中以 $PTX : DOX = 2:1$ 包藥量的毒性效果最佳，由此可知在不同比例藥物的治療下，對癌細胞的毒殺性具有一最適當之比例，代表調整載體藥物量可針對不同癌症做出最佳化效果。

【0050】 實驗例9：

【0051】 請參閱第十二圖，針對同時包覆PTX與DOX的載體SLS-10、SLS-30、SLS-45及SLS-60進行細胞毒性試驗(MTT assay)，於18小時及36小時分別測得其 IC_{50} 值。在18小時的時候，SLS-10的藥物釋放速度快，因此毒性最強，但是到36小時的時候並沒有太大的增加量；反之，SLS-60因為其厚度較厚，降解速度與藥物釋放速度較慢，在18小時的時候毒性較低，但是在18小時和36小時之間有顯著的毒性增加，顯示這段期間還有藥

物釋放後作用的現象，證明了利用殼層厚度調整藥物載體發揮了控制藥物釋放的能力。此外，殼層較薄的SLS-10由於包覆毒性較強的親水性藥物DOX較多，因此整體毒性較其他厚度的載體強。因此，利用載體的各项特性，作出不同藥物包覆量以及不同分解速度的藥物載體，能夠達到針對不同疾病與病患做調整的功能，對於臨床上較現今的藥物載體有更大的應用性與可行性。

【0052】 實驗例10：

【0053】 請參閱第十三圖，爲了進一步證明其他疏水性脂質亦能與聚乙烯醇共同形成厚度可調整功能之奈米載體，參照實驗例1的製作步驟，但將疏水性脂質改爲單硬脂酸甘油酯(Glycerol monostearate)，來取代甘油三軟脂酸酯。

【0054】 先製備100 μ L的聚乙烯醇水溶液做爲內水相(W_{in})，將其加入1mL溶有10mg單硬脂酸甘油酯的二氯甲烷(Dichloromethane)及乙醇溶液(1:1)中，並將此混合溶液進行第一次乳化。接著，將第一次乳化得到之溶液加入不同濃度的3mL聚乙烯醇水溶液做爲外水相(W_{out})進行第二次乳化，以形成水/油/水(W/O/W)包覆形式的載體。

【0055】 將第二次乳化得到之溶液利用旋轉式真空蒸發儀將氯仿移除後，再用離心機以8000rpm的轉速進行離心，洗去多餘的聚乙烯醇，最後蒐集載體於5mL的去離子水中。

【0056】 以高解析穿透式電子顯微鏡拍攝載體結構，發現使用不同聚乙烯醇濃度成功調整出了不同厚度之載體，分別爲10nm、30nm及45nm，由此可知以單硬脂酸甘油酯取代甘油三軟脂酸酯，聚乙烯醇同樣具有可調整

厚度的功能。

【0057】 實驗例11：

【0058】 請參閱第十四圖，爲了證明本發明之載體即使包覆不同的親水性藥物，仍然能藉由調整載體殼層厚度來調控藥物的包覆率，參照實驗例1之製作步驟，但將阿黴素(Doxorubicin, DOX)改爲二氯二氨鉑(Cisplatin)，進行藥物包覆的測試。第十四圖顯示藥物包覆率結果，載體SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60四組脂質層厚度分別爲11.6nm、30.7nm、44.0nm、62.5nm，由圖可看出當載體的脂質層厚度增加時，同時內部的水相內核縮小，包覆於水相內核中之二氯二氨鉑的量隨之下降，與DOX的藥物包覆率結果具有相同的趨勢。

【0059】 實驗例12：

【0060】 請參閱第十五圖，爲了證明本發明之載體即使包覆不同的疏水性藥物，仍然能藉由調整載體殼層厚度來調控藥物的包覆率，參照實驗例1之製作步驟，但將太平洋紫杉醇(Paclitaxel, PTX)改爲多烯紫杉醇(Docetaxel)，進行藥物包覆的測試。從第十五圖所顯示之藥物包覆率結果，可看出當載體SLS-10、SLS-30、SLS-45、SLS-60四組的脂質層厚度增加時，包覆於殼層中之多烯紫杉醇藥物的量隨之增加，與PTX的藥物包覆率結果具有相同的趨勢。

【0061】 實驗例13：

【0062】 請參閱表二。當氧化鐵粒子降至奈米尺寸時，每一顆奈米大小的氧化鐵可視爲單一獨立的磁矩，這使得氧化鐵奈米粒子具有超順磁的

特性。此特性讓氧化鐵奈米粒子在醫療應用上有著磁導引、磁熱療、核磁共振影像等功能。為了使本發明之載體有更進一步的功能性，我們在載體的外殼層加入氧化鐵(Fe_3O_4)奈米粒子，大小約落在5~8nm。表二所示為三種不同聚乙二醇/氧化鐵比例下所製作之固體脂質球體(solid lipid sphere, SLS)載體的平均粒子大小、多分散性指數(polydispersity index, PDI)、殼層厚度以及表面電位(Zeta Potential)。當聚乙二醇濃度從1%增加至3%，而氧化鐵含量從30%增加至50%時，脂質層從20.92nm增厚至58.15nm，而平均粒子大小為201.8nm至206.6nm。此項結果顯示氧化鐵奈米粒子含量在殼層厚度以及內部水相的體積上亦具有調整的功能。之後，將三組不同比例之聚乙二醇與氧化鐵奈米粒子合成出的載體在高解析穿透式電子顯微鏡下拍攝載體結構，如第十六圖所示，由圖可看出其載體大小與殼層厚度的趨勢與表二相符。

表二： SLS 在不同聚乙二醇與氧化鐵濃度比例下的平均大小、多分散性指數、殼層厚度及表面電位

	聚乙二醇在外水相中的濃度(%)	Fe_3O_4 濃度(%)	平均粒子大小(nm)	多分散性指數(PDI)	殼層厚度(nm)	表面電位(Zeta Potential)(mV)
I	1	30	201.8 ± 3.3	0.121 ± 0.019	20.92 ± 7.3	2.1 ± 0.4
II	2	40	204.3 ± 2.7	0.126 ± 0.016	41.34 ± 2.24	3.2 ± 0.9
III	3	50	206.6 ± 1.1	0.146 ± 0.010	58.15 ± 4.95	2.7 ± 1.3

【0063】 實驗例14：

【0064】 請參閱第十七圖。包覆於載體脂質殼層中的氧化鐵奈米粒子

尺寸為5~8nm，每一顆氧化鐵奈米粒子可視為單一獨立的磁矩，使得氧化鐵奈米粒子具有超順磁的特性。此特性讓奈米氧化鐵粒子在受到外部磁場影響時，每個奈米氧化鐵粒子均會順著外部磁場的磁力線方向排列並吸附；而移除外部磁場後，因為氧化鐵奈米粒子重新分散於溶液中，磁矩方向為非等向性，而使得磁性氧化鐵奈米粒子回到不帶磁性的狀態。第十七圖為奈米氧化鐵粒子(IO)、以及包覆奈米氧化鐵粒子之脂質殼層厚度20.92nm(SLS-IO30)與58.15nm(SLS-IO50)的載體之磁滯曲線，由圖可看出SLS-IO30與SLS-IO50依然呈現超順磁性，且與IO於相近的外加磁場大小下會達到飽和磁矩。SLS-IO30與SLS-IO50磁矩強度低於IO，係因脂質與聚乙炔醇(poly(vinyl alcohol), PVA)稀釋了氧化鐵的含量。

【0065】 實施例

【0066】 1. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，包含一親水性藥物；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性藥物；一疏水性脂質；一聚乙炔醇(poly(vinyl alcohol), PVA)；以及一氧化鐵奈米粒子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該聚乙炔醇與該氧化鐵奈米粒子的濃度來調控，且該疏水性藥物的含量及該親水性藥物的含量係取決於該初始殼厚度及該水相內核的體積。

【0067】 2. 如實施例1所述之奈米載體，其中該載體外徑為100nm~400nm。

【0068】 3. 如實施例1~2所述之奈米載體，其中該初始殼厚度為10nm~100 nm。

【0069】 4. 如實施例1~3所述之奈米載體，其中該氧化鐵奈米粒子之直徑為5~20nm。

【0070】 5. 如實施例1~4所述之奈米載體，其中該疏水性藥物為太平洋紫杉醇(Paclitaxel)或多烯紫杉醇(Docetaxel)。

【0071】 6. 如實施例1~5所述之奈米載體，其中該親水性藥物為阿黴素(Doxorubicin)或二氫二氨鉑(Cisplatin)。

【0072】 7. 如實施例1~6所述之奈米載體，其中該疏水性脂質為甘油三軟脂酸酯或單硬脂酸甘油酯。

【0073】 8. 如實施例1~7所述之奈米載體，其中該疏水性脂質的濃度為1到5%。

【0074】 9. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核；以及一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：一疏水性脂質；以及一水溶性高分子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該水溶性高分子的濃度來調控。

【0075】 10. 如實施例9所述之奈米載體，其中該水溶性高分子為聚乙烯醇。

【0076】 11. 如實施例9~10所述之奈米載體，其中該載體外徑為100nm~400nm。

【0077】 12. 如實施例9~11所述之奈米載體，其中該初始殼厚度為10nm~100 nm。

【0078】 13. 如實施例9~12所述之奈米載體，其中該疏水性脂質為甘

油三軟脂酸酯或單硬脂酸甘油酯。

【0079】 14. 如實施例9~13所述之奈米載體，其中該疏水性脂質的濃度為1到5%。

【0080】 15. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：一水相內核，具一初始核直徑；一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及一合成調控劑，決定該初始殼厚度。

【0081】 16. 如實施例15所述之奈米載體，其中該載體外徑為100nm~400nm。

【0082】 17. 如實施例15~16所述之奈米載體，其中該初始殼厚度為10 nm~100 nm。

【0083】 18. 如實施例15~17所述之奈米載體，其中該合成調控劑為聚乙烯醇。

【0084】 19. 如實施例15~18所述之奈米載體，其中該合成調控劑的濃度為0.5%~5%(w/v)。

【0085】 20. 一種製造一奈米載體之方法，其中該奈米載體具一載體外徑，該方法包含：形成一水相內核，其中該水相內核具一初始核直徑；於該水相內核表面，形成一油相外殼層，其中該油相外殼層具一初始殼厚度，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及於形成該水相內核及形成該油相外殼層之間，添加一合成調控劑，用以決定該初始殼厚度。

【0086】 21. 如實施例20所述之方法，其中該合成調控劑為聚乙烯

醇。

【0087】 22. 如實施例20~21所述之方法，其中於形成該水相內核之前，更添加一疏水性脂質。

【0088】 23. 如實施例20~22所述之方法，其中於形成該水相內核之前，更添加一氧化鐵奈米粒子。

【0089】 24. 如實施例20~23所述之方法，其中該載體外徑為100nm~400nm。

【0090】 25. 如實施例20~24所述之方法，其中該初始殼厚度為10 nm~100 nm。

【0091】 26. 如實施例20~25所述之方法，其中該氧化鐵奈米粒子之直徑為5~20nm。

【0092】 27. 如實施例20~26所述之方法，其中該疏水性脂質為甘油三軟脂酸酯或單硬脂酸甘油酯。

【0093】 28. 如實施例20~27所述之方法，其中該疏水性脂質的濃度為1到5%。

【0094】 29. 如實施例20~28所述之方法，其中該合成調控劑的濃度為0.5%~5%(w/v)。

【符號說明】

【0095】

10、20、30 奈米載體

101、201、301 水相內核

102、202、302 油相外殼層

103、203 疏水性脂質

104 水溶性高分子

105、205 親水性藥物

106、206 疏水性藥物

204 聚乙烯醇

207 氧化鐵奈米粒子

304 合成調控劑

401、402、403 步驟

A、C、E 載體外徑

B、D、F 初始殼厚度

G 初始核直徑

申請專利範圍

1. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：

一水相內核，包含一親水性藥物；以及

一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：

一疏水性藥物；

一疏水性脂質；

一聚乙烯醇(poly(vinyl alcohol), PVA)；以及

一氧化鐵奈米粒子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該聚乙烯醇與該氧化鐵奈米粒子的濃度來調控，且該疏水性藥物的含量及該親水性藥物的含量係取決於該初始殼厚度及該水相內核的體積。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之奈米載體，其中該載體外徑為 100nm~400nm。

3. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：

一水相內核；以及

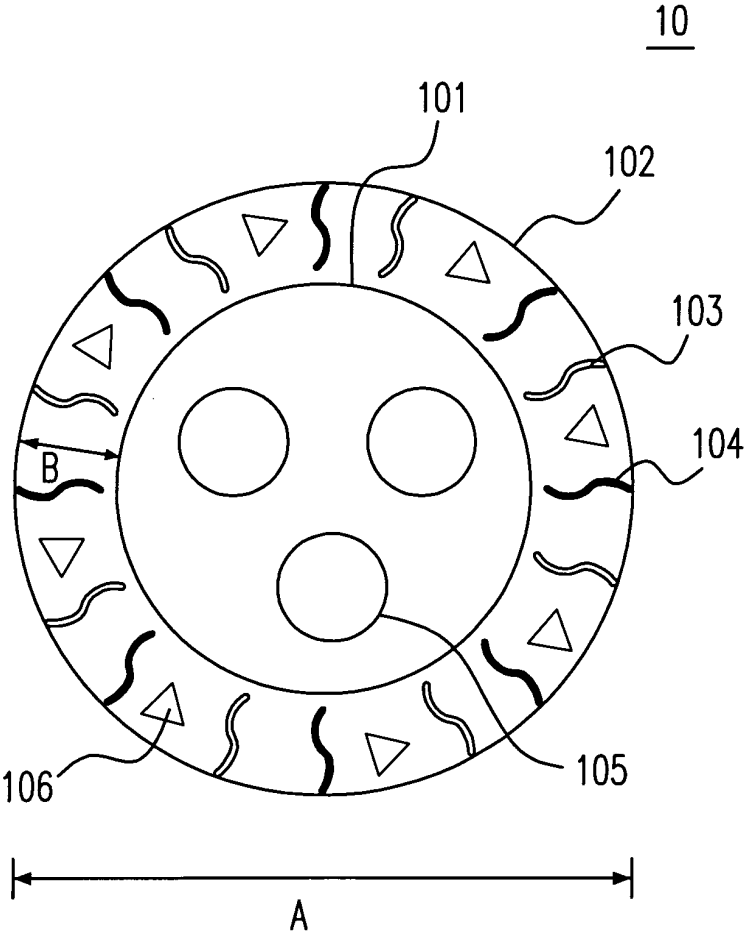
一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，且包含：

一疏水性脂質；以及

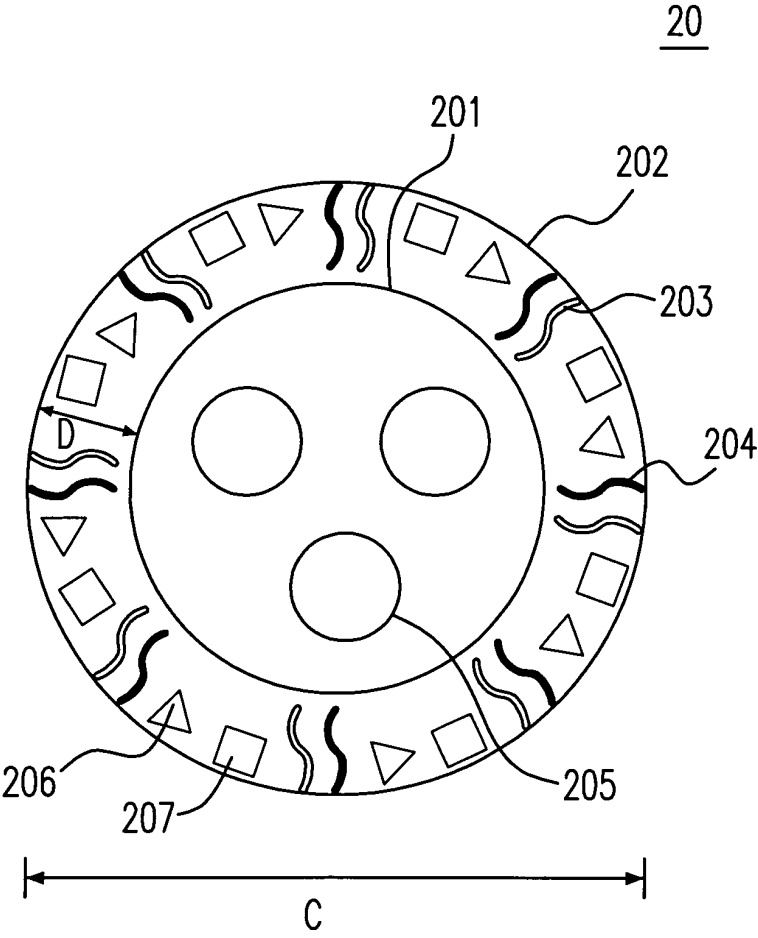
一水溶性高分子，其中在相同或近似的載體尺度下，該初始殼厚度及該水相內核的體積的相對大小，係可藉由該水溶性高分子的濃度來調控。

4. 如申請專利範圍第 3 項所述之奈米載體，其中該水溶性高分子為聚乙烯醇。
5. 一種奈米載體，具一載體外徑，並包含：
一水相內核，具一初始核直徑；
一油相外殼層，具一初始殼厚度，並包覆該水相內核，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及
一合成調控劑，決定該初始殼厚度。
6. 一種製造一奈米載體之方法，其中該奈米載體具一載體外徑，該方法包含：
形成一水相內核，其中該水相內核具一初始核直徑；
於該水相內核表面，形成一油相外殼層，其中該油相外殼層具一初始殼厚度，其中該載體外徑具有一相同或近似尺度，且該載體外徑等於該初始核直徑及兩倍該初始殼厚度之和；以及
於形成該水相內核及形成該油相外殼層之間，添加一合成調控劑，用以決定該初始殼厚度。
7. 如申請專利範圍第 6 項所述之方法，其中該合成調控劑為聚乙烯醇。
8. 如申請專利範圍第 6 項所述之方法，其中於形成該水相內核之前，更添加一疏水性脂質。

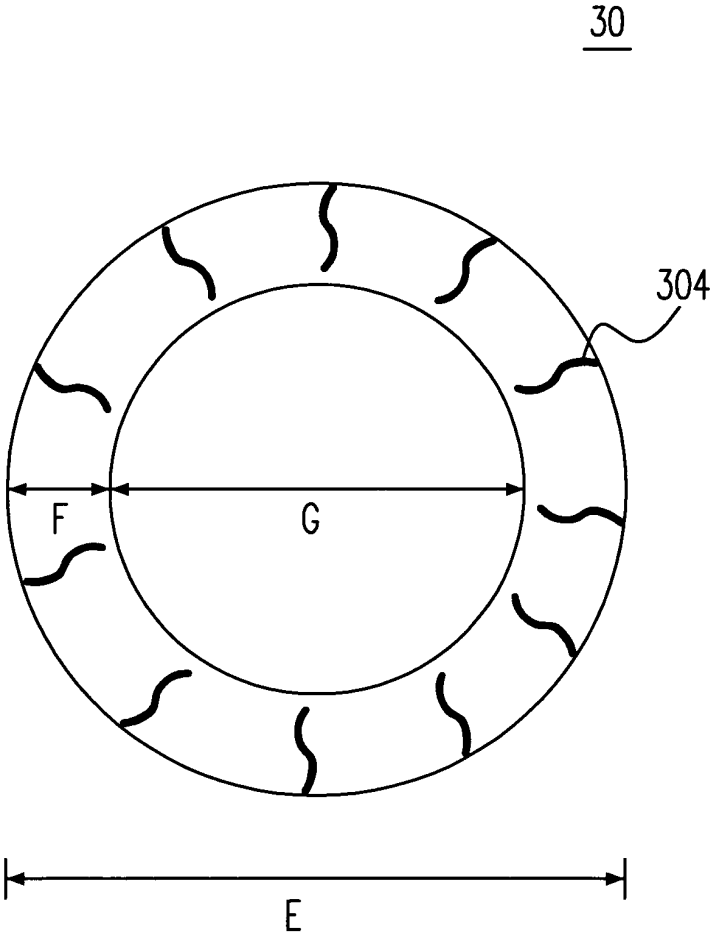
9. 如申請專利範圍第 6 項所述之方法，其中於形成該水相內核之前，更添加一氧化鐵奈米粒子。
10. 如申請專利範圍第 6 項所述之方法，其中該載體外徑為 100nm~400nm。



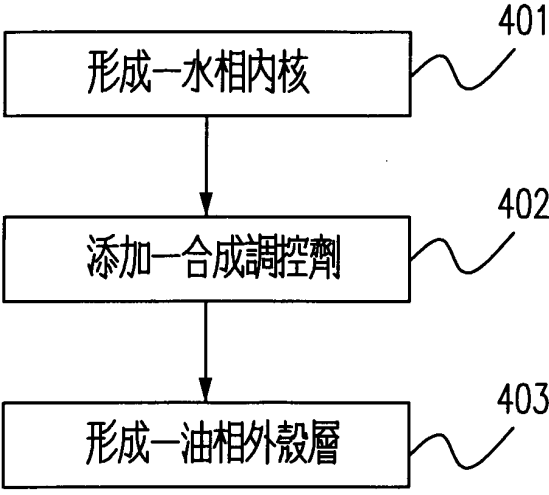
第一圖



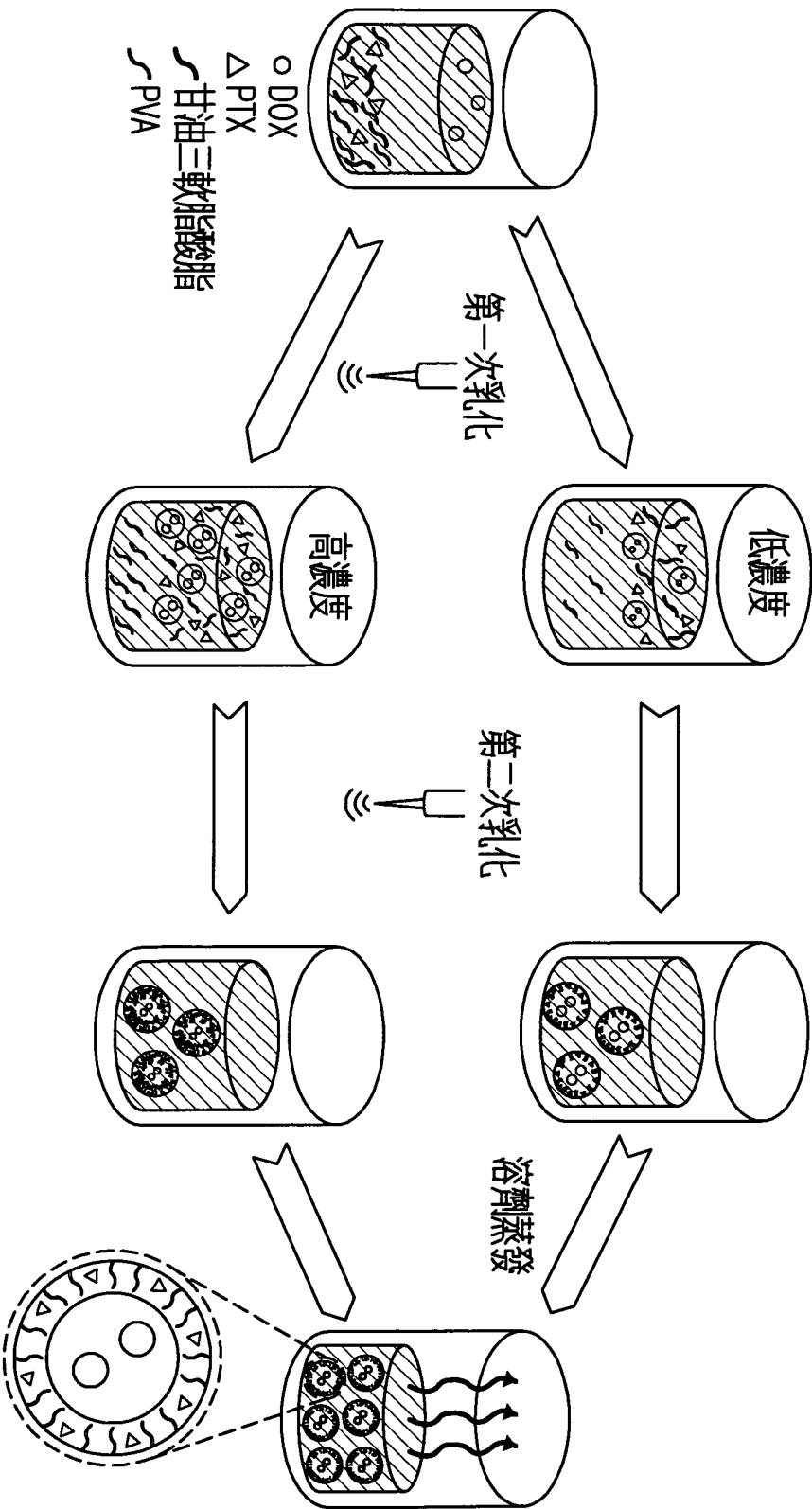
第二圖



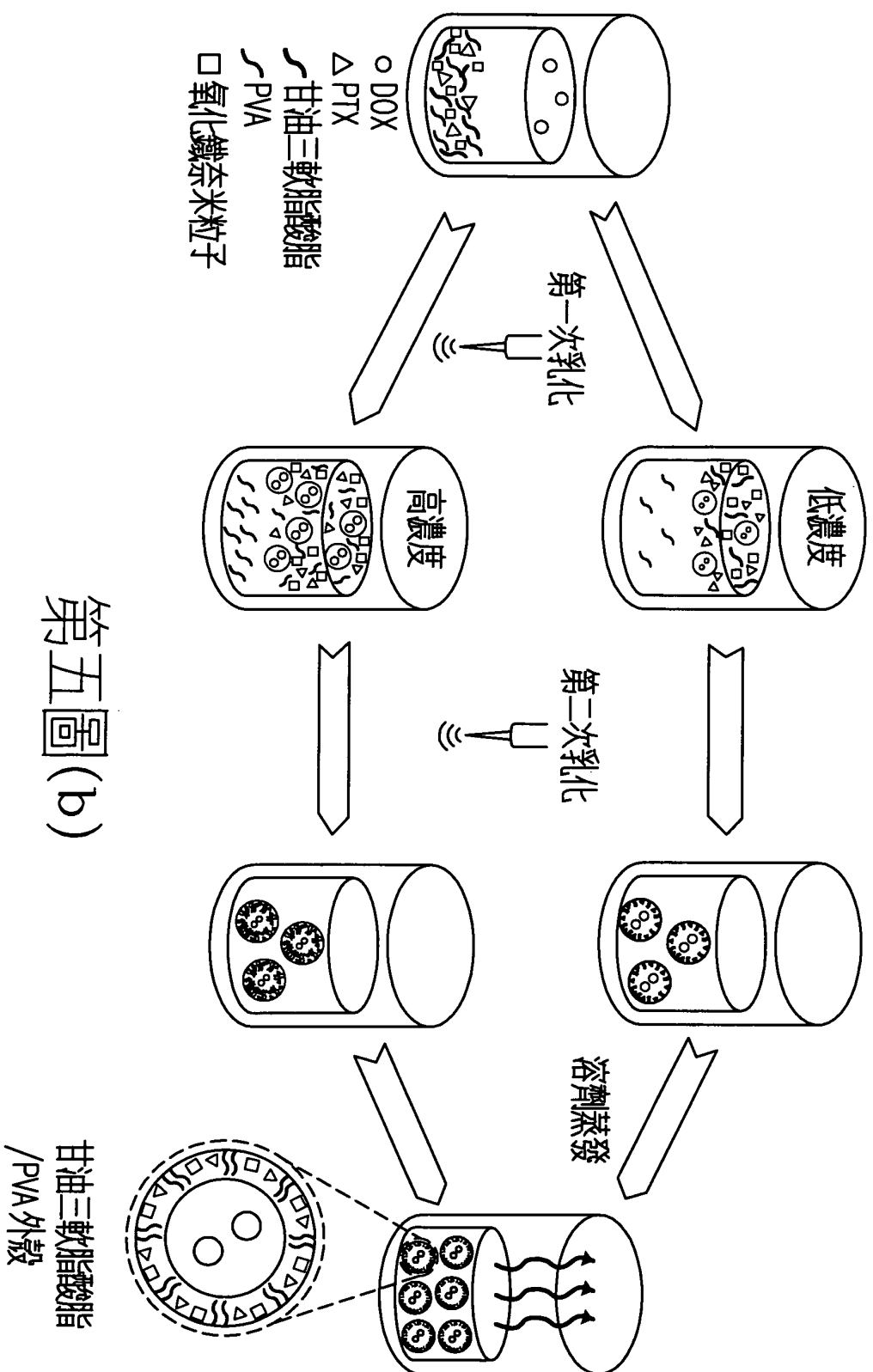
第三圖



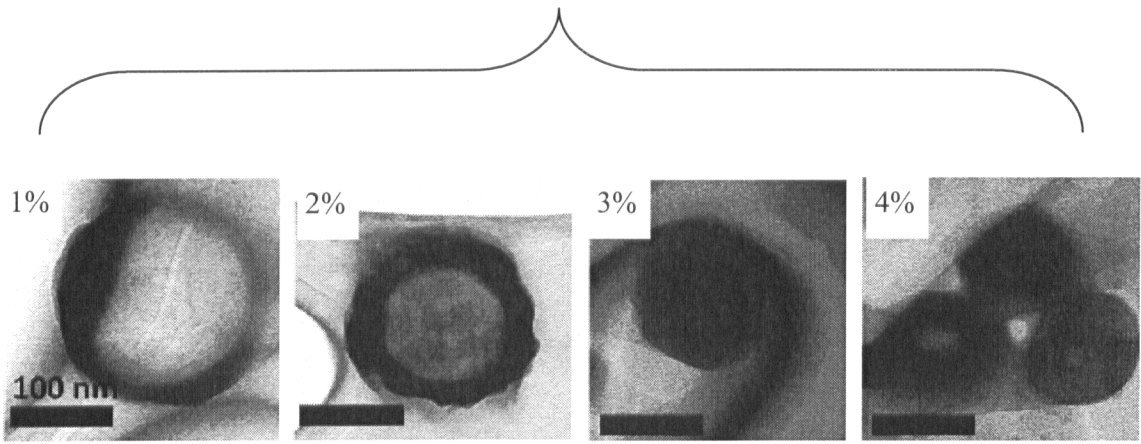
第四圖



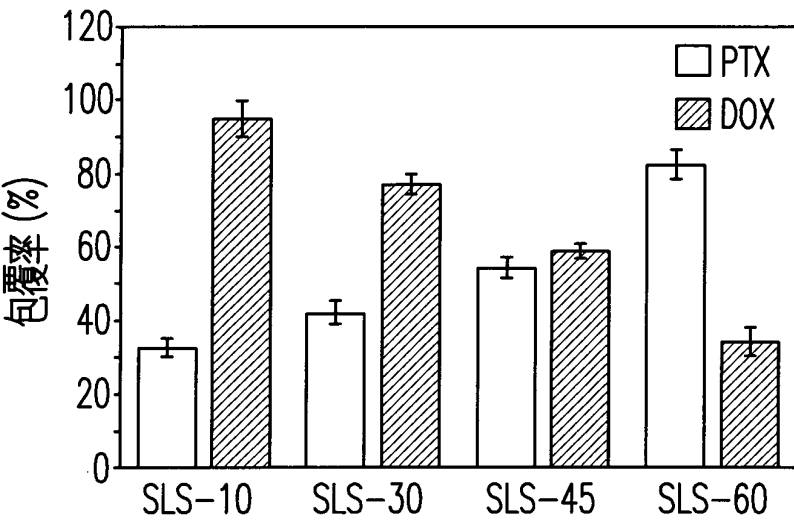
第五圖(a)



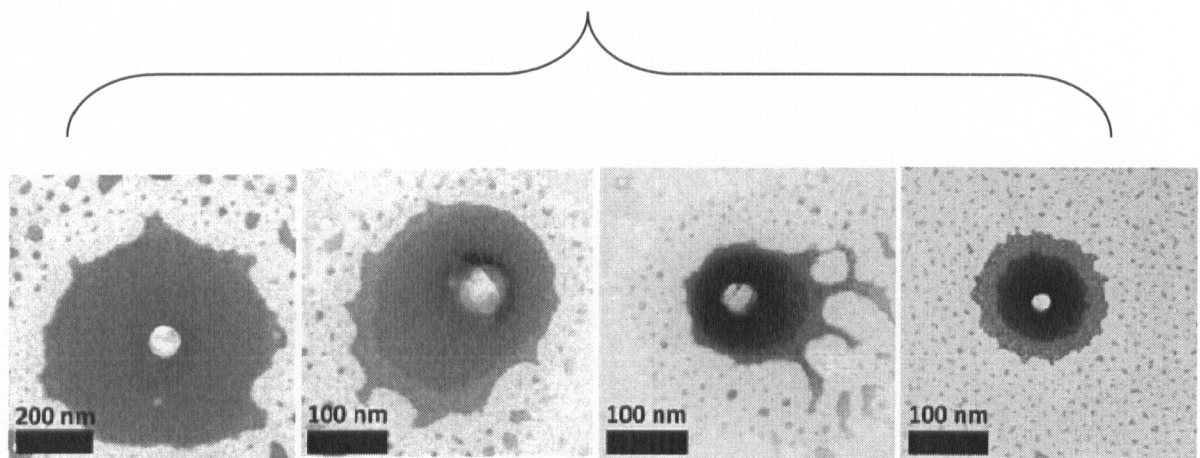
第五圖(b)



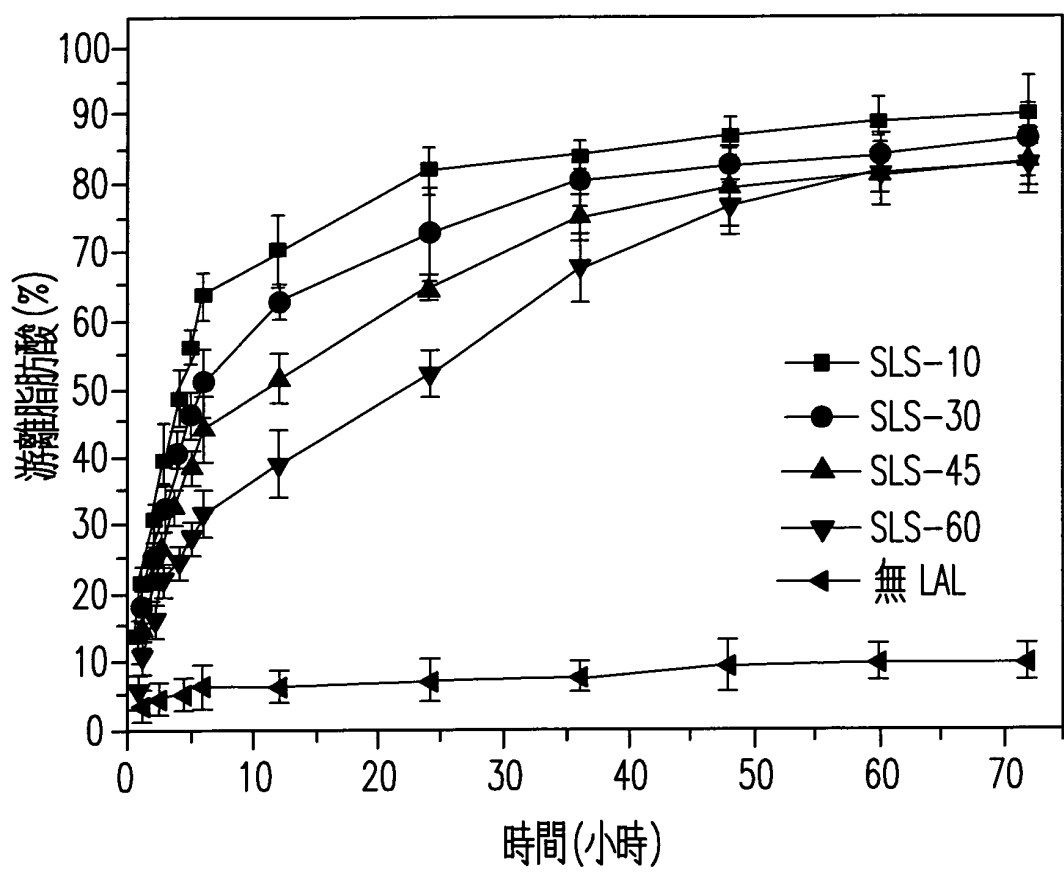
第六圖



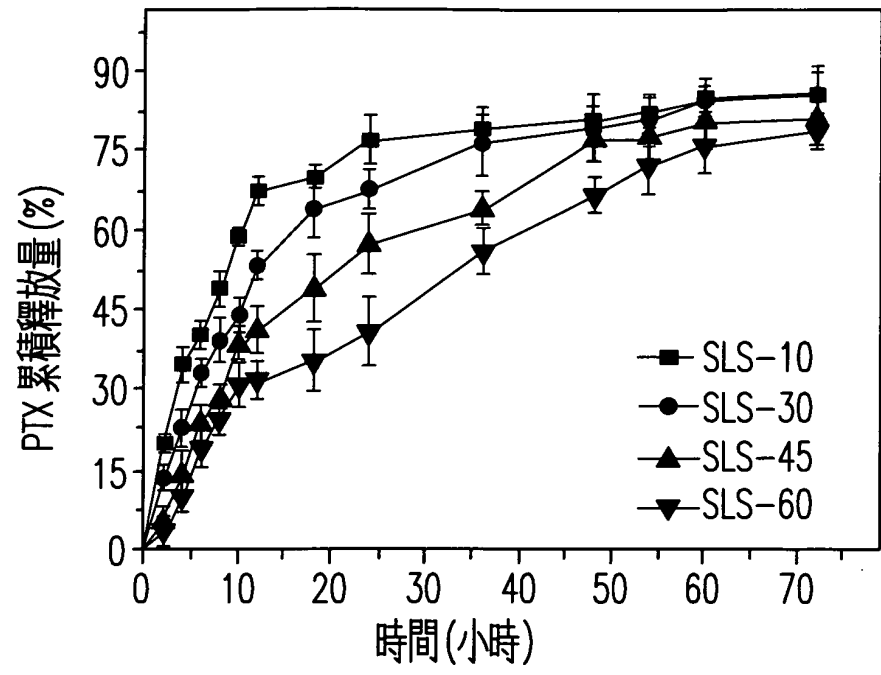
第七圖



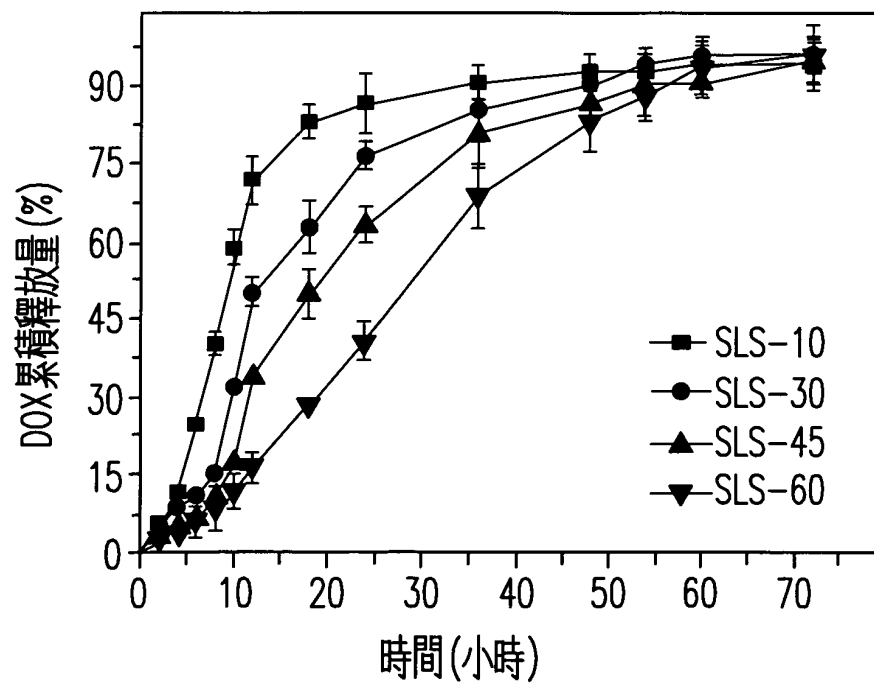
第八圖



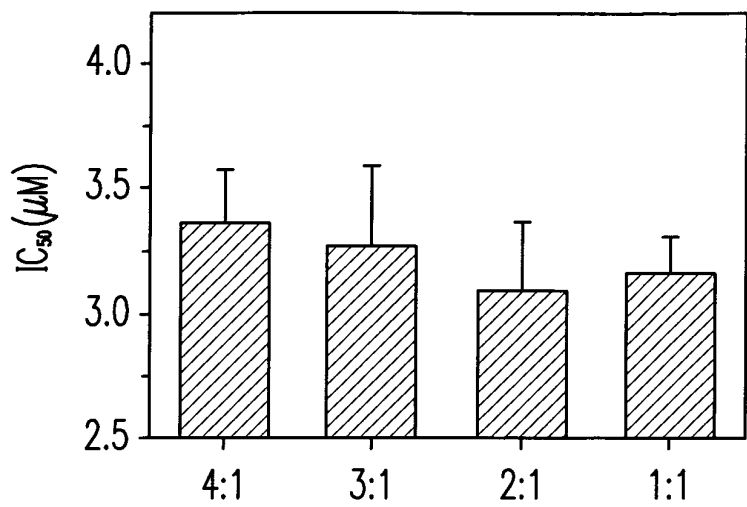
第九圖



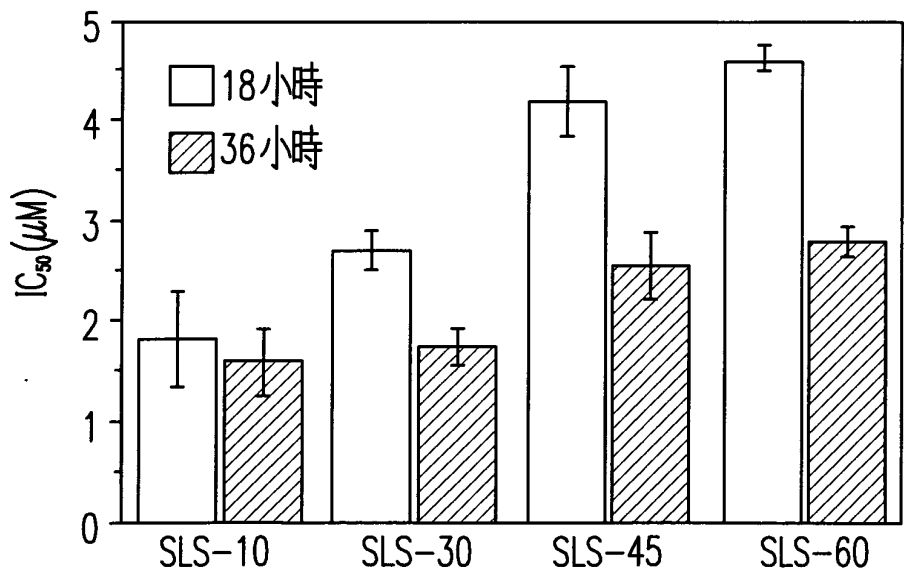
第十圖(a)



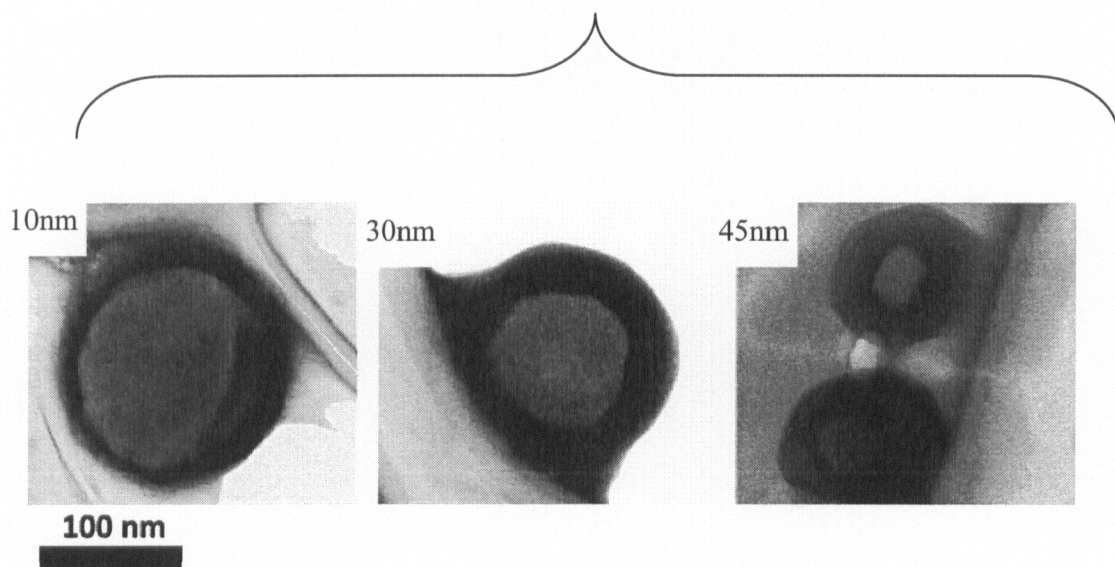
第十圖(b)



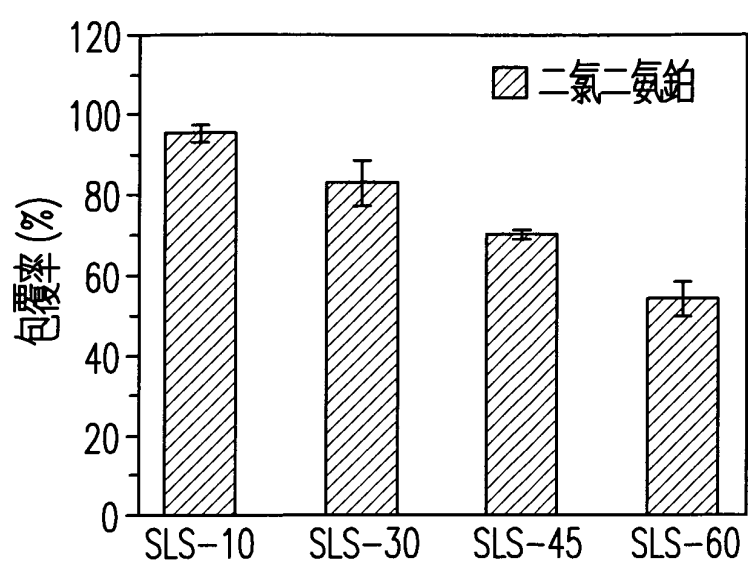
第十一圖



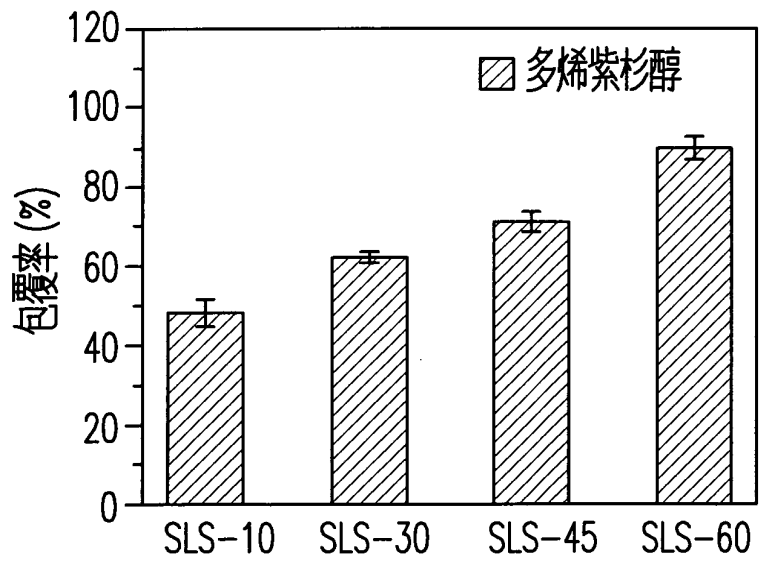
第十二圖



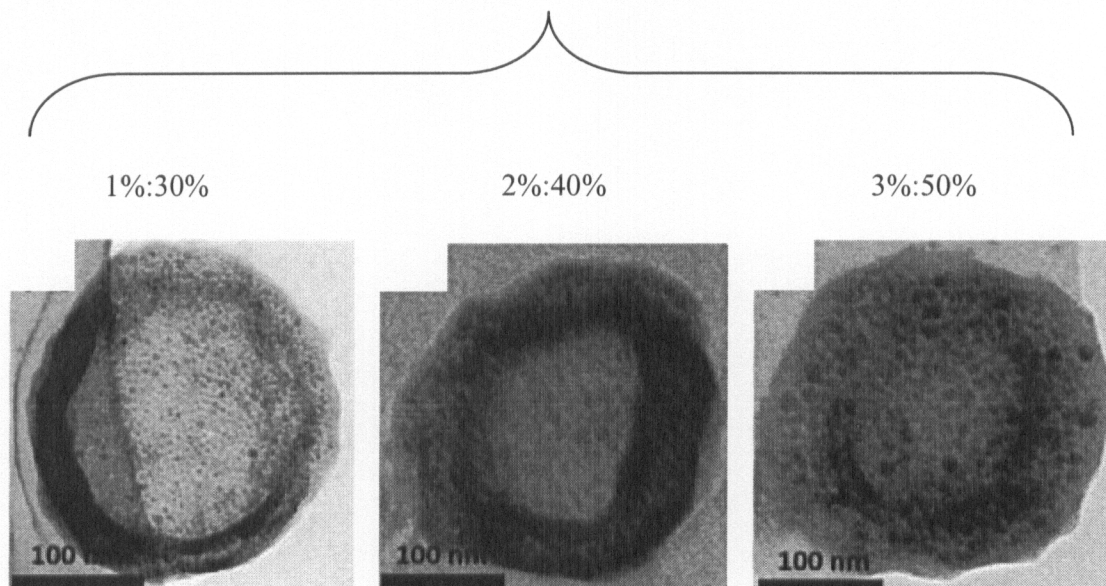
第十三圖



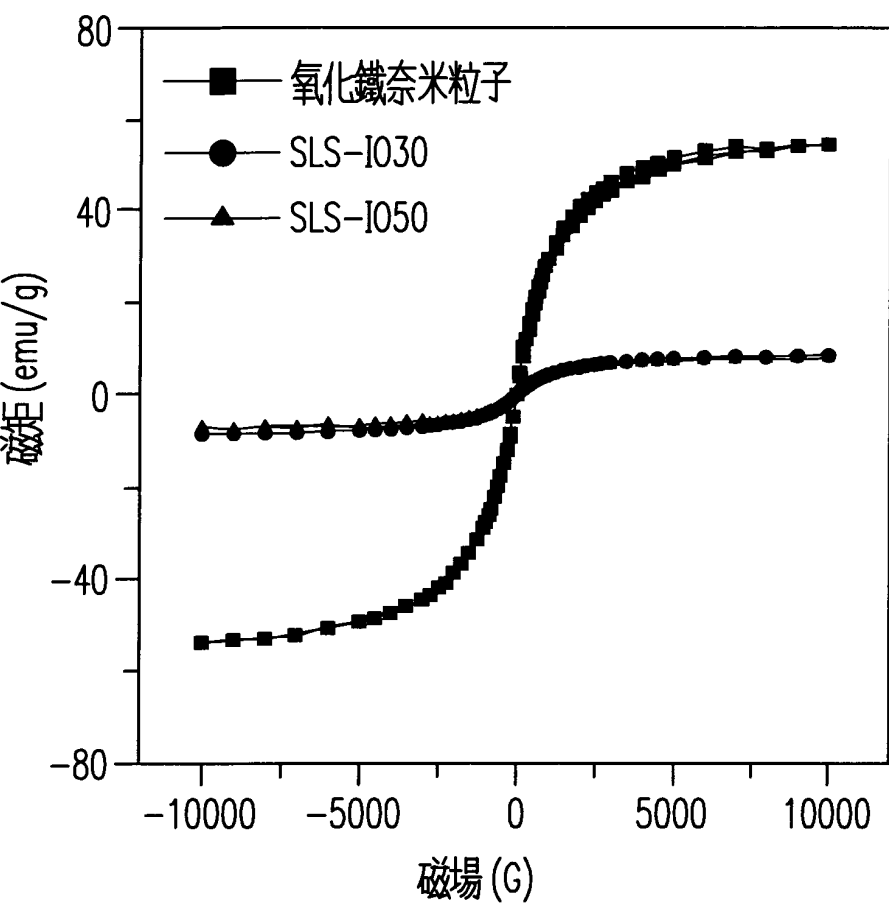
第十四圖



第十五圖



第十六圖



第十七圖