



(21)申請案號：105119828

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 06 月 24 日

(51)Int. Cl.：

*A61K49/12 (2006.01)**A61K49/18 (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：郭亭佑 KUO, TING-YU (TW)；黃唯婷 HUANG, WEI-TING (TW)；劉典謨 LIU, DEAN-MO (TW)

(74)代理人：葉璟宗；卓俊傑

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：7 共 23 頁

(54)名稱

自組裝奈米結構及其製備方法

SELF-ASSEMBLED NANOSTRUCTURE AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

(57)摘要

一種自組裝奈米結構，包括雙性幾丁聚醣以及顯影劑化合物。顯影劑化合物嫁接於雙性幾丁聚醣上。雙性幾丁聚醣與顯影劑化合物之間的化學鍵結具有加乘作用，可進一步提高顯影劑化合物的顯影效果。

A nanoparticle including an amphiphilic chitosan and a contrast agent is provided. The contrast agent is grafted to the amphiphilic chitosan. The chemical bonding between the amphiphilic chitosan and the contrast agent has a synergistic effect to further improve the contrasting ability of the contrast agent.

指定代表圖：

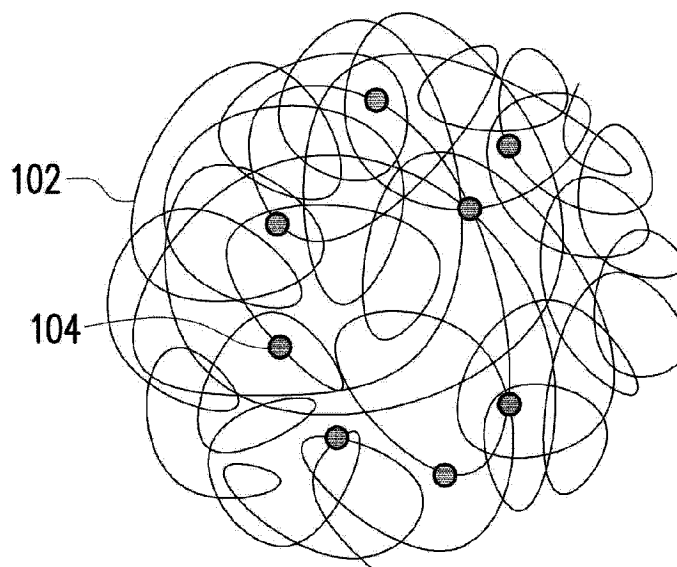
符號簡單說明：

100

100 . . . 自組裝奈米結構

102 . . . 雙性幾丁聚醣

104 . . . 顯影劑化合物



【圖1】



201800112

【發明摘要】

申請日：105/06/24

IPC分類：A61K 49/12 (2006.01)
A61K 49/18 (2006.01)**【中文發明名稱】** 自組裝奈米結構及其製備方法**【英文發明名稱】** SELF-ASSEMBLED NANOSTRUCTURE AND
METHOD FOR PRODUCING THE SAME

【中文】 一種自組裝奈米結構，包括雙性幾丁聚醣以及顯影劑化合物。顯影劑化合物嫁接於雙性幾丁聚醣上。雙性幾丁聚醣與顯影劑化合物之間的化學鍵結具有加乘作用，可進一步提高顯影劑化合物的顯影效果。

【英文】 A nanoparticle including an amphiphilic chitosan and a contrast agent is provided. The contrast agent is grafted to the amphiphilic chitosan. The chemical bonding between the amphiphilic chitosan and the contrast agent has a synergistic effect to further improve the contrasting ability of the contrast agent.

【指定代表圖】 圖1。**【代表圖之符號簡單說明】**

100：自組裝奈米結構

102：雙性幾丁聚醣

104：顯影劑化合物

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】自組裝奈米結構及其製備方法

【英文發明名稱】SELF-ASSEMBLED NANOSTRUCTURE AND
METHOD FOR PRODUCING THE SAME

【技術領域】

【0001】本發明是有關於一種奈米結構及其製備方法，且特別是有關於一種具有顯影功能的自組裝奈米結構及其製備方法。

【先前技術】

【0002】磁共振成像（Magnetic resonance imaging，MRI）為診斷疾病且將其分階段的重要工具，這是由於其為非侵襲性以及非輻射性的。磁共振成像中，經常利用顯影劑（contrast agent）改良組織影像的解析度。

【0003】在習知技術中，常使用超順磁性氧化鐵或其衍生物等含有金屬的化合物作為顯影劑。但氧化鐵的半衰期較長，易累積在生物體組織中，長久下來有造成慢毒性的疑慮。

【發明內容】

【0004】有鑒於此，本發明提供一種自組裝奈米結構其製備方法，所製備出的自組裝奈米結構具有極佳的顯影效果且不具生物毒性。

【0005】一種自組裝奈米結構（self-assembled nanostructure），包括雙性幾丁聚醣以及顯影劑化合物。顯影劑化合物嫁接於雙性幾

丁聚醣上。

【0006】 在本發明的一實施例中，上述的雙性幾丁聚醣包括羧甲基己醯幾丁聚醣 (carboxymethyl hexanoyl chitosan, CHC)、脫氧膽酸修飾羧甲基幾丁聚醣 (deoxycholic acid modified carboxymethylated chitosan, DCMC)、月桂醯基硫酸幾丁聚醣 (lauroyl sulfated chitosan, LSC) 或甲基吡咯烷酮幾丁聚醣 (methylpyrrolidone chitosan, MPC)。

【0007】 在本發明的一實施例中，上述的顯影劑化合物包括核磁共振 (MRI) 顯影劑化合物。

【0008】 在本發明的一實施例中，上述的核磁共振顯影劑化合物包括釷雙胺 (Gadodiamide)、釷噴酸二甲葡胺 (Gadopentetate Dimeglumine)、釷特酸葡甲胺 (Gadoterate Meglumine) 或其組合。

【0009】 在本發明的一實施例中，上述的雙性幾丁聚醣的重量平均分子量為約 1,000 至 60,000。

【0010】 在本發明的一實施例中，上述的自組裝奈米結構纏繞成球狀奈米粒子，球狀奈米粒子的粒徑為約 5 奈米至 500 奈米。

【0011】 在本發明的一實施例中，上述的自組裝奈米結構為 100 重量份計，顯影劑化合物為約 1 重量份至 30 重量份。

【0012】 在本發明的一實施例中，上述的自組裝奈米結構包覆螢光顯影劑化合物。

【0013】 在本發明的一實施例中，上述的螢光顯影劑化合物包括螢光異硫氰酸鹽 (fluorescein isothiocyanate, FITC)、 $C_{83}H_{95}N_{13}O_{23}S_2Zn_2$ 或 $C_{57}H_{58}N_{14}O_{18}SZn_2$ 。

【0014】 在本發明的一實施例中，上述的自組裝奈米結構包覆藥

物分子。

【0015】 在本發明的一實施例中，上述的藥物分子包括順-二氯二氨鉑(II) (cis-diamminedichloridoplatinum(II)) 或其衍生物、吉西他濱 (gemcitabine) 或其衍生物、或去氧甲基薑黃素 (demethoxycurcumin) 或其衍生物。

【0016】 本發明提供一種自組裝奈米結構的製備方法，包括：配製含有雙性幾丁聚醣的溶液；於所述溶液中加入顯影劑化合物；於所述溶液中加入交聯劑；使所述雙性幾丁聚醣與所述顯影劑化合物進行交聯反應；純化所述溶液；以及乾燥所述溶液。

【0017】 在本發明的一實施例中，上述的交聯劑包括 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳醯二亞胺鹽酸鹽 (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC·HCl)、N-羥基丁二醯亞胺 (N-Hydroxysuccinimide, NHS) 或其組合。

【0018】 在本發明的一實施例中，上述的交聯反應的反應溫度為約 4°C 至 60°C。

【0019】 在本發明的一實施例中，上述的交聯反應的反應時間為約 4 小時至 24 小時。

【0020】 在本發明的一實施例中，更包括在自組裝奈米結構的表面上修飾具有專一辨識性的蛋白質分子。

【0021】 在本發明的一實施例中，上述的蛋白質分子包括表皮生長因數受體 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 或 CD133 蛋白。

【0022】 在本發明的一實施例中，在配製含有雙性幾丁聚醣的溶

液時，以溶液為 100 重量份計，雙性幾丁聚醣的含量為約 0.05 重量份至 1 重量份。

【0023】 在本發明的一實施例中，上述的顯影劑化合物包括核磁共振（MRI）顯影劑化合物。

【0024】 在本發明的一實施例中，上述的核磁共振（MRI）顯影劑化合物包括釷雙胺（Gadodiamide）、釷噴酸二甲葡胺（Gadopentetate Dimeglumine）、釷特酸葡甲胺（Gadoterate Meglumine）或其組合。

【0025】 基於上述，在本發明的自組裝奈米結構中，將顯影劑化合物嫁接於雙性幾丁聚醣上，由於兩者之間有化學鍵結，故顯影劑化合物不會釋放於生物體組織中而危害生物體。此外，雙性幾丁聚醣與顯影劑化合物之鍵結具有加乘作用，可進一步提高顯影劑化合物的顯影效果。另外，可將具有專一辨識性的蛋白質分子修飾於本發明的自組裝奈米結構上，使本發明的自組裝奈米結構具有專一的辨識功能，可提高給藥的效率。

【0026】 為讓本發明的上述特徵和優點能更明顯易懂，下文特舉實施例，並配合所附圖式作詳細說明如下。

【圖式簡單說明】

【0027】

圖 1 是根據本發明一實施例所繪示之自組裝奈米結構的示意圖。

圖 2 是根據本發明一實施例所繪示之以自組裝奈米結構包覆藥物分子的示意圖。

圖 3 是根據本發明另一實施例所繪示之以自組裝奈米結構包

覆藥物分子與螢光顯影劑化合物的結構示意圖。

圖 4 是根據本發明一實施例所繪示之自組裝奈米結構的製備方法的流程圖。

圖 5 是根據本發明一實施例的鈎雙胺、羧甲基己醯幾丁聚醣及嫁接有鈎雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的紅外線光譜圖。

圖 6 是根據本發明一實施例之自組裝奈米結構對不同藥物分子的包覆率的比較圖。

圖 7 是根據本發明一實施例的修飾有表皮生長因數受體的自組裝奈米結構與未修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構的細胞包吞量比較圖。

【實施方式】

【0028】 圖 1 是根據本發明一實施例所繪示之自組裝奈米結構的示意圖。

【0029】 請參照圖 1，本發明的自組裝奈米結構 100 包括雙性幾丁聚醣 102 以及顯影劑化合物 104，其中顯影劑化合物 104 嫁接於雙性幾丁聚醣 102 上。換言之，雙性幾丁聚醣 102 以及顯影劑化合物 104 之間具有化學鍵結，而非物理性吸附。如圖 1 所示，在一實施例中，在適當環境（例如水性溶液）下，嫁接有顯影劑化合物 104 的雙性幾丁聚醣 102 會纏繞並自組裝成球狀奈米粒子。更具體地說，本發明的雙性幾丁聚醣 102 同時具有親水性及疏水性的官能基，在水溶液中具有自組裝的性質，而能在嫁接顯影劑化合物 104 後，形成本發明的自組裝奈米結構 100。

【0030】 在一實施例中，本發明的雙性幾丁聚醣例如是羧甲基己

醯幾丁聚醣、脫氧膽酸修飾羧甲基幾丁聚醣、月桂醯基硫酸幾丁聚醣或甲基吡咯烷酮幾丁聚醣。本發明的雙性幾丁聚醣 102 在嫁接顯影劑化合物 104 後，其臨界微胞濃度(critical micelle concentration)為約 0.010 mg/ml 至 0.030 mg/ml 之間，例如約 0.026 至 0.028 之間。也就是說，本發明的雙性幾丁聚醣 102 在嫁接顯影劑化合物 104 後，於極低的濃度下即可進行自組裝，形成本發明的自組裝奈米結構 100。

【0031】 顯影劑化合物包括核磁共振 (MRI) 顯影劑化合物。在一實施例中，核磁共振顯影劑化合物例如是釷錯合物、錳錯合物、鉻錯合物或鐵錯合物。釷錯合物例如是釷雙胺、釷噴酸二甲葡胺、釷特酸葡甲胺或其組合。在一實施例中，如圖 1 所示，本發明的顯影劑化合物 104 位於自組裝奈米結構 100 的內側，故顯影劑化合物 104 與生物體接觸的機率可被降低。因此，本發明的自組裝奈米結構 100 具有極低的毒性。在圖 1 中，顯影劑化合物 104 全部位於自組裝奈米結構 100 的內側，但本發明不以此為限。在其他實施例中 (未繪示)，部份的顯影劑化合物 104 亦可位於自組裝奈米結構 100 的外側。

【0032】 在一實施例中，雙性幾丁聚醣 102 的重量平均分子量為約 1,000 至 60,000，例如約 5,000 至 60,000、約 10,000 至 50,000 或約 20,000 至 40,000。雙性幾丁聚醣 102 的重量平均分子量影響自組裝奈米結構 100 的粒徑。在一實施例中，本發明的自組裝奈米結構 100 的粒徑為約 5 奈米至 500 奈米，例如約 10 奈米至 500 奈米、約 50 奈米至 400 奈米或約 100 奈米至 300 奈米。若自組裝奈米結構 100 的粒徑小於約 5 奈米，則自組裝奈米結構 100 容易

被血液帶走。若自組裝奈米結構 100 的粒徑大於約 500 奈米，則自組裝奈米結構 100 不易進入生物體內的腫瘤細胞中。

【0033】 在一實施例中，以自組裝奈米結構 100 為 100 重量份計，顯影劑化合物 104 為約 1 重量份至 30 重量份，例如約 1 重量份至 20 重量份、約 5 重量份至 20 重量份或約 10 重量份至 15 重量份。若顯影劑化合物 104 小於約 1 重量份，則自組裝奈米結構 100 的顯影效果不足。若顯影劑化合物 104 大於約 30 重量份，則自組裝奈米結構 100 在水溶液中不易自組裝成球體狀。

【0034】 本發明之自組裝奈米結構 100 可用來包覆藥物分子，使藥物分子在生物體中被運送時可以被自組裝奈米結構 100 所保護。此外，可藉由本發明之自組裝奈米結構 100 的顯影功能，可輕易觀察到被自組裝奈米結構 100 所包覆的藥物分子在生物體中的位置。

【0035】 圖 2 是根據本發明一實施例所繪示之以自組裝奈米結構包覆藥物分子的示意圖。圖 3 是根據本發明另一實施例所繪示之以自組裝奈米結構包覆藥物分子與螢光顯影劑化合物的結構示意圖。

【0036】 請參見圖 2 及圖 3，自組裝奈米結構 100 包覆藥物分子 106。更具體地說，自組裝奈米結構 100 之纏繞網狀結構捕獲藥物分子 106 於其中。在一實施例中，藥物分子例如是順-二氯二氫鉑(II)或其衍生物、吉西他濱或其衍生物或去氧甲基薑黃素或其衍生物。特別要注意的是，藥物分子 106 是以物理性的方式被包覆於自組裝奈米結構 100 中。也就是說，藥物分子 106 和自組裝奈米結構 100 之間不具有化學鍵結。因此，藥物分子可較容易地從自

組裝奈米結構 100 中被釋放，進而被生物體吸收。

【0037】 在一實施例中，自組裝奈米結構 100 更可包覆螢光顯影劑化合物 108，以進一步加強顯影效果，如圖 3 所示。更具體地說，自組裝奈米結構 100 之纏繞網狀結構捕獲螢光顯影劑化合物 108 於其中。在一實施例中，螢光顯影劑化合物 108 例如是螢光異硫氰酸鹽、 $C_{83}H_{95}N_{13}O_{23}S_2Zn_2$ （如 PSVue™794）或 $C_{57}H_{58}N_{14}O_{18}SZn_2$ （如 PSVue™480）。

【0038】 特別要注意的是，螢光顯影劑化合物 108 亦是以物理性的方式被包覆於自組裝奈米結構 100 中。也就是說，螢光顯影劑化合物 108 和自組裝奈米結構 100 之間不具有化學鍵結。

【0039】 在一實施例中，本發明的顯影劑化合物例如是通過 FDA 認證的金屬錯合物，故人體對本發明的自組裝奈米結構發生嚴重過敏的機率極低。

【0040】 圖 4 是根據本發明一實施例所繪示之自組裝奈米結構的製備方法的流程圖。

【0041】 請參照圖 4，在步驟 S100 中，先配製含有雙性幾丁聚醣的溶液。在一實施例中，雙性幾丁聚醣例如是羧甲基己醯幾丁聚醣、脫氧膽酸修飾羧甲基幾丁聚醣、月桂醯基硫酸幾丁聚醣或甲基吡咯烷酮幾丁聚醣。在一實施例中，在配製含有雙性幾丁聚醣的溶液時，以溶液為 100 重量份計，雙性幾丁聚醣的含量為約 0.05 重量份至 1 重量份，例如約 0.1 重量份至 1 重量份、約 0.15 重量份至 0.85 重量份或約 0.2 重量份至 0.7 重量份。

【0042】 接著，在步驟 S102 中，於溶液中加入顯影劑化合物。在一實施例中，顯影劑化合物包括核磁共振（MRI）顯影劑化合物。

核磁共振顯影劑化合物例如是釷錯合物、錳錯合物、鉻錯合物或鐵錯合物。釷錯合物例如是釷雙胺、釷噴酸二甲葡胺或釷特酸葡胺。

【0043】 然後，在步驟 S104 中，於溶液中加入交聯劑。在一實施例中，交聯劑例如是 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳醯二亞胺鹽酸鹽、N-羥基丁二醯亞胺或其組合。

【0044】 之後，在步驟 S106 中，使雙性幾丁聚醣與顯影劑化合物進行交聯反應。在一實施例中，交聯反應的反應溫度例如是約 4°C 至 60°C，例如約 10°C 至 60°C、約 20°C 至 60°C 或約 40°C 至 60°C。交聯反應的反應時間例如是約 4 小時至 24 小時，例如約 8 小時至 24 小時、約 12 小時至 24 小時或約 18 小時至 24 小時。本發明可藉由控制例如各交聯劑的用量、交聯反應的反應溫度、反應時間等參數，以製備具有不同顯影劑含量的自組裝奈米結構。

【0045】 繼之，在步驟 S108 中，對溶液進行純化。在一實施例中，純化方法例如是以透析進行純化。透析用的溶液例如是水或乙醇。

【0046】 接著，在步驟 S110 中，對溶液進行乾燥，得到黃色粉末。在一實施例中，乾燥方法例如是烘乾或凍乾。然後，可將此黃色粉末溶於水性溶液中，即可得到本發明的自組裝奈米結構 100。

【0047】 在一實施例中，可進一步地在自組裝奈米結構 100 的表面上修飾具有專一辨識性的蛋白質分子。蛋白質分子例如是表皮生長因數受體或 CD133 蛋白。本發明的自組裝奈米結構 100 的表面被修飾上具有專一辨識性的蛋白質分子後，可對不同的目標具有專一辨識性。例如，具有專一辨識性的蛋白質分子為抗體，被修飾在本發明的自組裝奈米結構 100 的表面上。在此情形下，本

發明的自組裝奈米結構 100 可對相對應的抗原具有專一辨識性。

【0048】本發明的自組裝奈米結構的製備過程簡易，可降低量產的難度。本發明的自組裝奈米結構的製備過程中使用的溶劑多為毒性較低的水、甲醇或異丙醇等溶劑，可增加自組裝奈米結構的安全性。

實施例

【0049】本發明的自組裝奈米結構例如下述方式製備。取 0.5g 的羧甲基己醯幾丁聚醣、0.2g 的釷雙胺和 0.65g 的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳醯二亞胺鹽酸鹽，溶於 100mL 的磷酸鹽緩衝溶液 (phosphate buffer) 中。磷酸鹽緩衝溶液的 pH 為 7.4。在低溫 (4°C) 下攪拌 30 分鐘後，加入 0.39g 的 N-羥基丁二醯亞胺，並於低溫 (4°C) 下攪拌 24 小時。待反應結束後，以純水透析此溶液 48 小時，再以乙醇透析此溶液 24 小時。接著，將溶液烘乾、攪碎，得到黃色粉末。將此黃色粉末溶於水溶液中即可得到本發明的自組裝奈米結構。

【0050】在一實施例中，如下表 1 所示，可藉由調整交聯反應的反應時間，得到具有不同顯影劑含量的自組裝奈米結構。

表 1

反應時間	釷雙胺 : EDC·HCl : NHS	自組裝奈米結構的 釷雙胺含量 (重量百分濃度)	自組裝奈米結構 的釷含量 (重量百分濃度)
4 小時	1 : 2 : 2	15.86%	4.77%
8 小時	1 : 2 : 2	12.39%	3.62%
12 小時	1 : 2 : 2	13.36%	3.94%

18 小時	1 : 2 : 2	9.92%	2.84%
24 小時	1 : 2 : 2	17.10%	5.20%

【0051】 在一實施例中，如下表 2 所示，可藉由調整交聯反應的反應溫度，得到具有不同顯影劑含量的自組裝奈米結構。

表 2

反應時間	反應溫度	自組裝奈米結構的 釷雙胺含量 (重量百分濃度)	自組裝奈米結構 的釷含量 (重量百分濃度)
4 小時	4°C	15.98%	4.81%
4 小時	室溫	15.86%	4.77%
4 小時	40°C	13.90%	4.12%
4 小時	50°C	11.57%	3.36%
4 小時	60°C	9.03%	2.57%

【0052】 在一實施例中，如下表 3 所示，可藉由調整交聯劑的比例，得到具有不同顯影劑含量的自組裝奈米結構。

表 3

反應時間	釷雙胺 : EDC·HCl : NHS	自組裝奈米結構的 釷雙胺含量(重量 百分濃度)	自組裝奈米結構 的釷含量(重量 百分濃度)
4 小時	1 : 2 : 5	14.57%	4.34%
4 小時	1 : 2 : 1	10.54%	3.04%
4 小時	1 : 5 : 2	15.94%	4.80%
4 小時	1 : 4 : 4	12.57%	3.68%

【0053】 圖 5 是根據本發明一實施例的釷雙胺、羧甲基己醯幾丁聚醣及嫁接有釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的紅外線光譜圖。

【0054】 請參照圖 5，羧甲基己醯幾丁聚醣的 C=O 的訊號為 1668.93 cm^{-1} ，嫁接釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的 C=O 的訊號為 1641.23 cm^{-1} 。更具體地來說，羧甲基己醯幾丁聚醣的 C=O 的訊號在嫁接釷雙胺後產生位移的現象。嫁接釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣具有三級胺，未嫁接釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣則只具有二級胺。三級胺上的烷基的推電子行為使 C=O 的鍵能減弱，故嫁接有釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的 C=O 的訊號具有較低的波數。由此可知，在本發明的自組裝奈米結構中，羧甲基己醯幾丁聚醣與釷雙胺之間具有化學鍵結。

【0055】 本發明的自組裝奈米結構、釷雙胺與物理性包覆釷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的弛豫率 (relaxivity) 如表 4 所示。以下，符號「CHC+Gd」代表釷雙胺與羧甲基己醯幾丁聚醣之間僅有物理性混合，而符號「CHC-Gd」代表釷雙胺與羧甲基己醯幾丁聚醣之間存在化學鍵結 (亦即本發明的自組裝奈米結構)。

表 4

	弛豫率($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
CHC-Gd (本發明的自組裝奈米結構)	4.2729
CHC+Gd	1.2277
釷雙胺	1.8158

【0056】 請參見表 4，可知本發明的自組裝奈米結構的弛豫率比單一釷雙胺和 CHC+Gd 的弛豫率還要高。當顯影劑中的順磁金屬所嫁接的分子越大，順磁金屬和溶劑分子間的旋轉時間會變長，可

使顯影劑的弛豫率被提升。顯影劑的弛豫率越高，則其對比效果越佳，具有越優異的顯影效果。本發明的自組裝奈米結構中的順磁金屬釷上嫁接著雙性幾丁聚醣（高分子），故其弛豫率比單一釷雙胺和 CHC+Gd 高，故本發明的自組裝奈米結構的對比效果比單一釷雙胺和 CHC+Gd 還要優異。換言之，本發明的顯影劑化合物嫁接雙性幾丁聚醣後，可對顯影劑化合物的顯影效果產生加乘作用，且此加乘作用僅在釷雙胺與羧甲基己醯幾丁聚醣之間存在化學鍵結（亦即本發明的自組裝奈米結構）時才發生，當兩者之間僅具有物理性混合時並不會有此加乘作用。

【0057】 圖 6 是根據本發明一實施例之自組裝奈米結構對不同藥物分子的包覆率的比較圖。

【0058】 本發明的自組裝奈米結構在水溶液中對藥物分子進行 12 小時的包覆後，對藥物分子可具有優異的包覆率。如圖 6 所示，本發明的自組裝奈米結構在水溶液中對去氧甲基薑黃素、順-二氯二氨鉑(II)、吉西他濱等藥物分子進行 12 小時的包覆後，對上述藥物分子具有優異的包覆率。因此，本發明的自組裝奈米結構在生醫領域具有良好的應用價值。

【0059】 圖 7 是本發明一實施例的修飾有表皮生長因數受體的自組裝奈米結構與未修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構的細胞包吞量比較圖。

【0060】 在本發明一實施例中，修飾有表皮生長因數受體的自組裝奈米結構與未修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構分別包覆螢光顯影劑化合物（例如是 PSVue™794 或 PSVue™480），再分別置於肺癌細胞株(A549)中進行 4 小時的細胞培養。在本發明中，

例如是以下述方式，得到包覆螢光顯影劑化合物的自組裝奈米結構。將嫁接有鈷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣溶於水中。嫁接有鈷雙胺的羧甲基己醯幾丁聚醣的重量百分濃度為 0.05 wt %。於溶液中加入 500 g/mL 螢光顯影劑化合物（例如是 PSVue™794 或 PSVue™480），攪拌 12 小時。最後，對溶液進行純水透析，得到包覆螢光顯影劑化合物的自組裝奈米結構。

【0061】 比較肺癌細胞株(A549)的相對螢光強度，可得到肺癌細胞株(A549)對修飾有表皮生長因數受體的自組裝奈米結構與未修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構的細胞包吞量。如圖 7 所示，肺癌細胞株(A549)對修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構具有優異的細胞包吞量。因此，本發明的自組裝奈米結構在生醫領域具有良好的應用價值。

【0062】 綜上所述，在本發明的自組裝奈米結構中，將顯影劑化合物嫁接於雙性幾丁聚醣上，由於兩者之間有化學鍵結，故顯影劑化合物不會釋放於生物體組織中而危害生物體。此外，雙性幾丁聚醣與顯影劑化合物之鍵結具有加乘作用，可進一步提高顯影劑化合物的顯影效果。另外，可將具有專一辨識性的蛋白質分子修飾於本發明的自組裝奈米結構上，使本發明的自組裝奈米結構具有專一的辨識功能，可提高給藥的效率。

【0063】 雖然本發明已以實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何所屬技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明的精神和範圍內，當可作些許的更動與潤飾，故本發明的保護範圍當視後附的申請專利範圍所界定者為準。

【符號說明】

【0064】

100：自組裝奈米結構

102：雙性幾丁聚醣

104：顯影劑化合物

106：藥物分子

108：螢光顯影劑化合物

S100、S102、S104、S106、S108、S110：步驟

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種自組裝奈米結構（self-assembled nanostructure），包括：

雙性幾丁聚醣；以及

顯影劑化合物，嫁接於所述雙性幾丁聚醣上。

【第2項】 如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述雙性幾丁聚醣包括羧甲基己醯幾丁聚醣（carboxymethyl hexanoyl chitosan, CHC）、脫氧膽酸修飾羧甲基幾丁聚醣（deoxycholic acid modified carboxymethylated chitosan, DCMC）、月桂醯基硫酸幾丁聚醣（lauroyl sulfated chitosan, LSC）或甲基吡咯烷酮幾丁聚醣（methylpyrrolidone chitosan, MPC）。

【第3項】 如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述顯影劑化合物包括核磁共振（MRI）顯影劑化合物。

【第4項】 如申請專利範圍第3項所述的自組裝奈米結構，其中所述核磁共振顯影劑化合物包括釷雙胺（Gadodiamide）、釷噴酸二甲葡胺（Gadopentetate Dimeglumine）、釷特酸葡甲胺（Gadoterate Meglumine）或其組合。

【第5項】 如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述雙性幾丁聚醣的重量平均分子量為1,000至60,000。

【第6項】 如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述自組裝奈米結構纏繞成球狀奈米粒子，所述球狀奈米粒子的粒徑為5奈米至500奈米。

【第7項】如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中以所述自組裝奈米結構為100重量份計，所述顯影劑化合物為1重量份至30重量份。

【第8項】如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述自組裝奈米結構包覆螢光顯影劑化合物。

【第9項】如申請專利範圍第8項所述的自組裝奈米結構，其中所述螢光顯影劑化合物包括螢光異硫氰酸鹽（fluorescein isothiocyanate, FITC）、 $C_{83}H_{95}N_{13}O_{23}S_2Zn_2$ 或 $C_{57}H_{58}N_{14}O_{18}SZn_2$ 。

【第10項】如申請專利範圍第1項所述的自組裝奈米結構，其中所述自組裝奈米結構包覆藥物分子。

【第11項】如申請專利範圍第10項所述的自組裝奈米結構，其中所述藥物分子包括順-二氯二氨鉑(II)（cis-diamminedichloridoplatinum(II)）或其衍生物、吉西他濱（gemcitabine）或其衍生物、或去氧甲基薑黃素（demethoxycurcumin）或其衍生物。

【第12項】一種自組裝奈米結構的製備方法，包括：

配製含有雙性幾丁聚醣的溶液；

於所述溶液中加入顯影劑化合物；

於所述溶液中加入交聯劑；

使所述雙性幾丁聚醣與所述顯影劑化合物進行交聯反應；

純化所述溶液；以及

乾燥所述溶液。

【第13項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述交聯劑包括1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳醯二亞胺

鹽 酸 鹽 (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC·HCl) 、 N- 羥 基 丁 二 醯 亞 胺 (N-Hydroxysuccinimide, NHS) 或其組合。

【第14項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述交聯反應的反應溫度為4°C至60°C。

【第15項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述交聯反應的反應時間為4小時至24小時。

【第16項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，更包括在所述自組裝奈米結構的表面上修飾具有專一辨識性的蛋白質分子。

【第17項】如申請專利範圍第16項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述蛋白質分子包括表皮生長因數受體 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 或CD133蛋白。

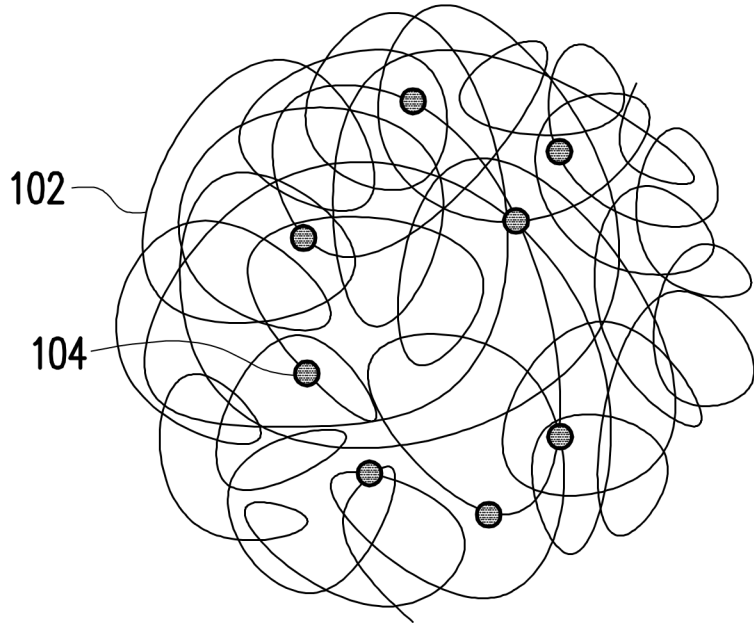
【第18項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中在配製含有所述雙性幾丁聚醣的所述溶液時，以所述溶液為100重量份計，所述雙性幾丁聚醣的含量為0.05重量份至1重量份。

【第19項】如申請專利範圍第12項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述顯影劑化合物包括核磁共振 (MRI) 顯影劑化合物。

【第20項】如申請專利範圍第19項所述的自組裝奈米結構的製備方法，其中所述核磁共振 (MRI) 顯影劑化合物包括釷雙胺 (Gadodiamide)、釷噴酸二甲葡胺 (Gadopentetate Dimeglumine)、釷特酸葡甲胺 (Gadoterate Meglumine) 或其組合。

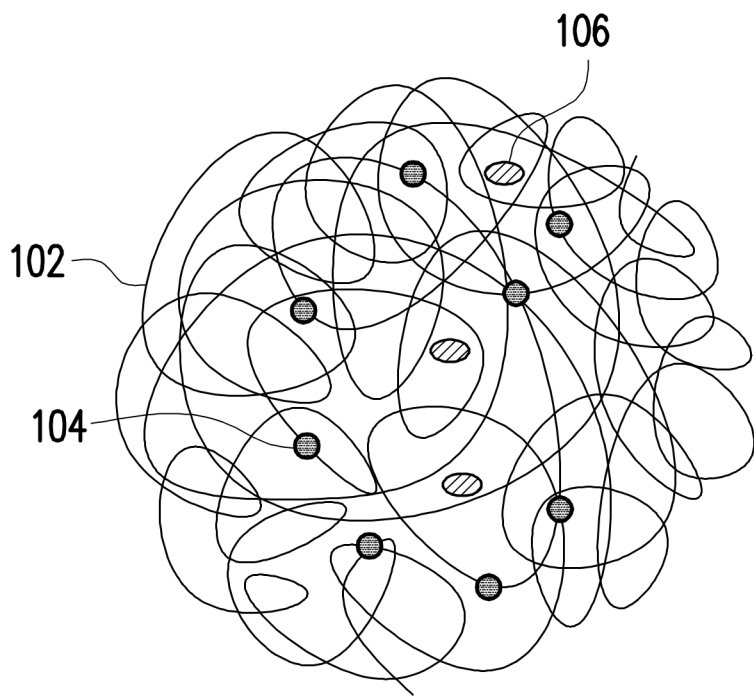
【發明圖式】

100

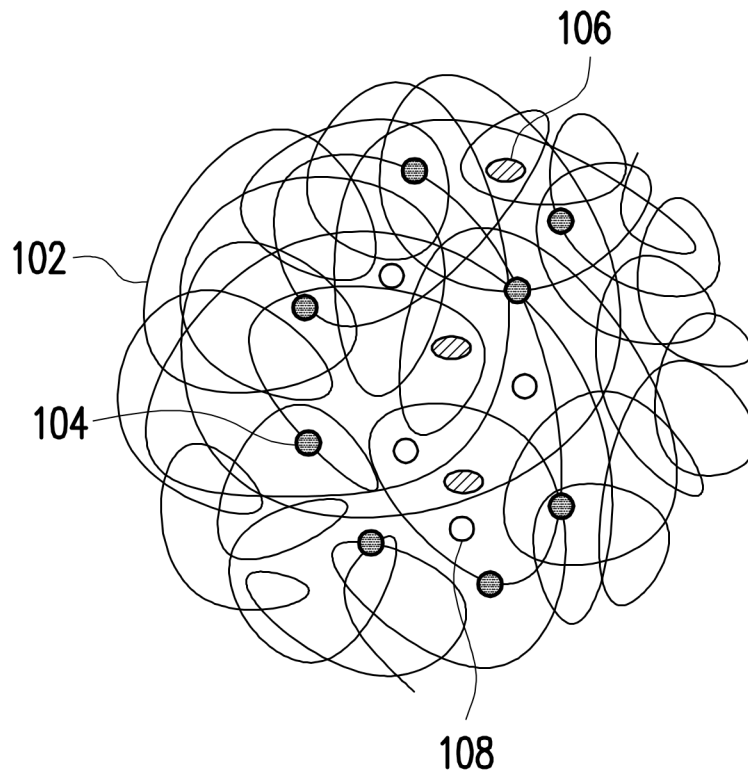


【圖1】

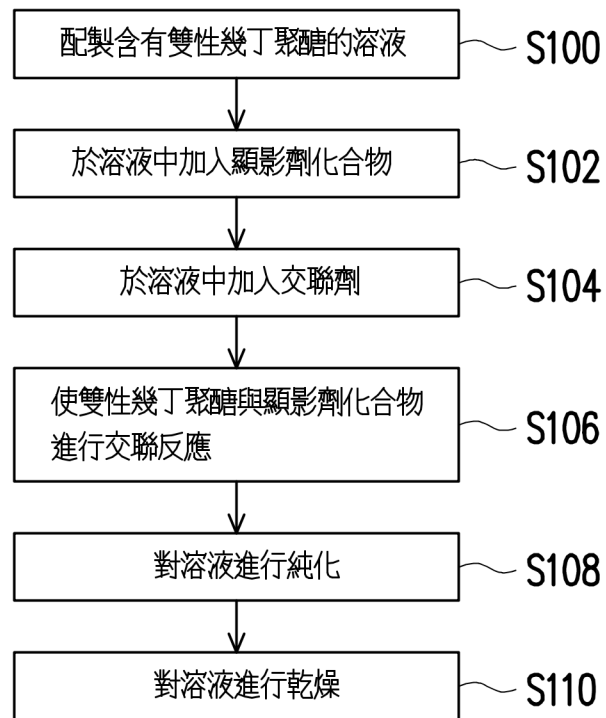
100



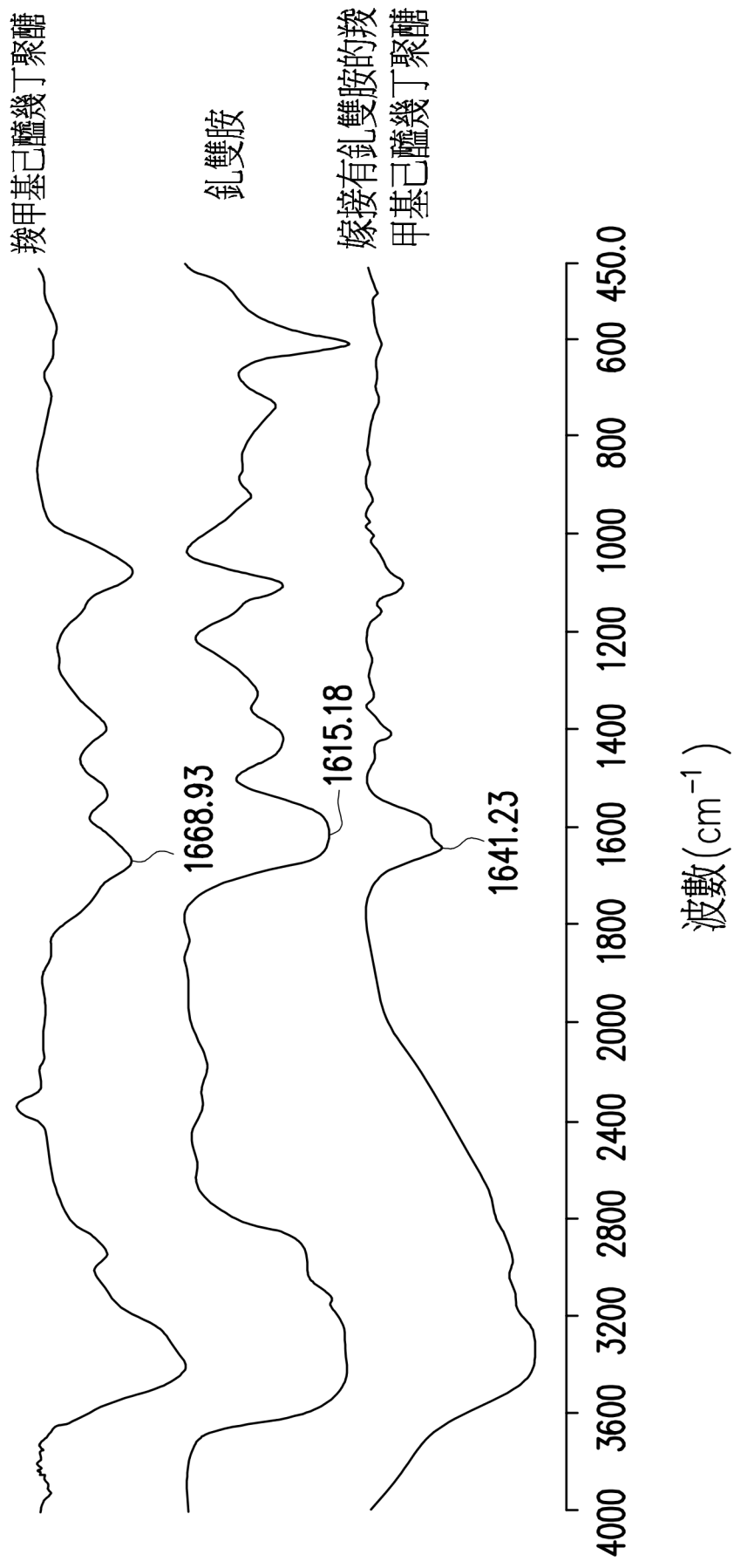
【圖2】



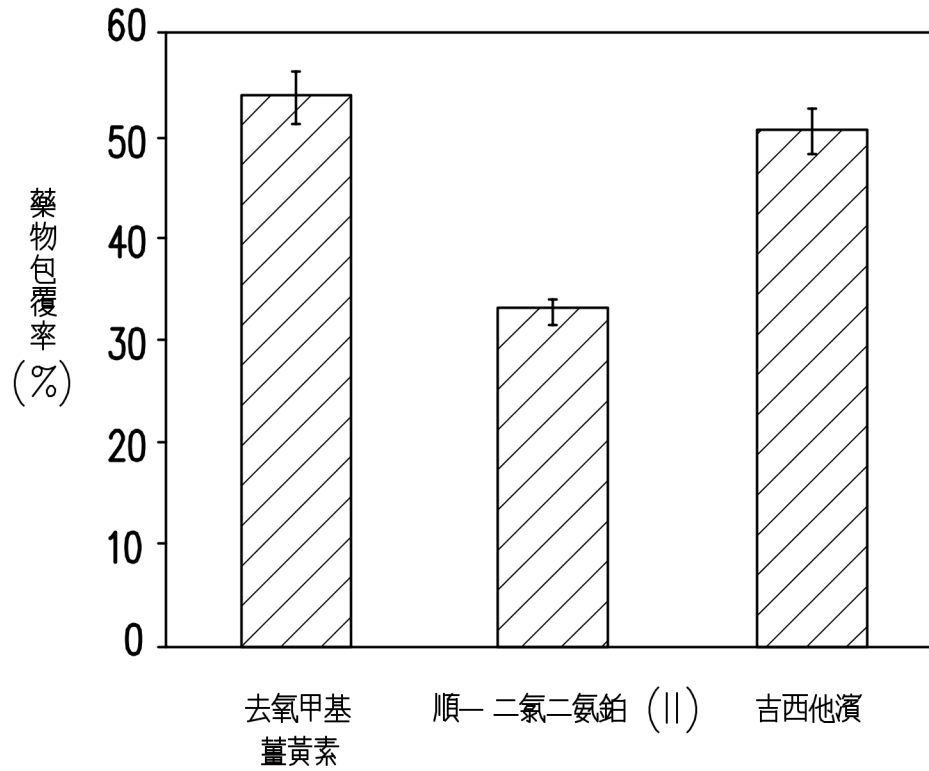
【圖3】



【圖4】

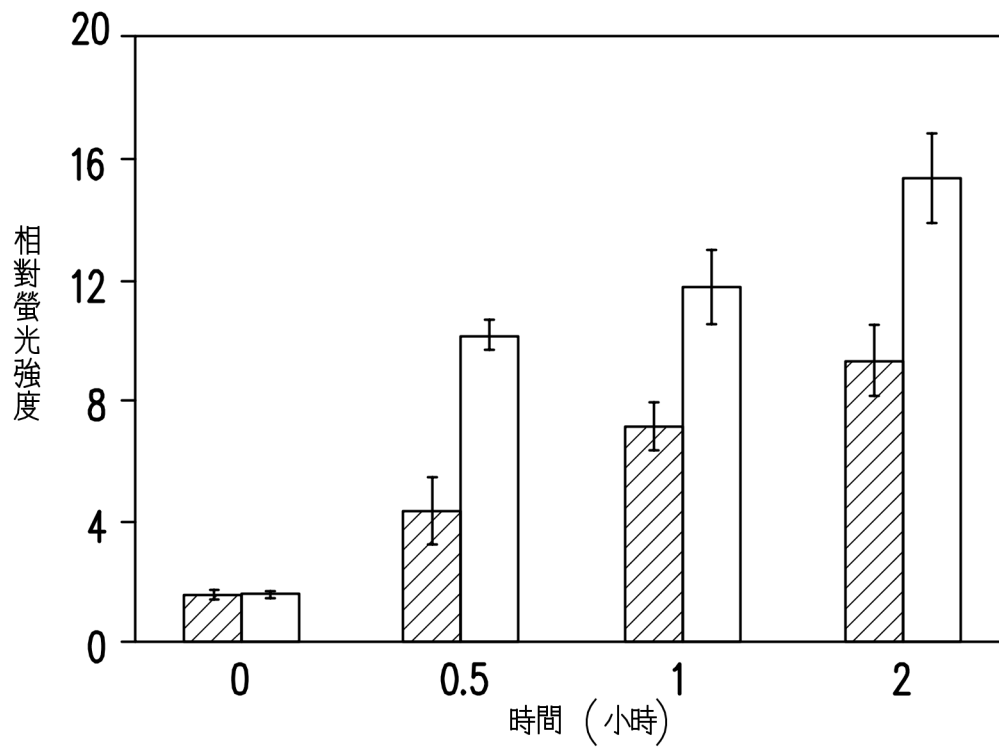


【圖5】



【圖6】

□ 修飾有表皮生長因數受體的自組裝奈米結構
▨ 未修飾表皮生長因數受體的自組裝奈米結構



【圖7】