



(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 202317470 A

(43) 公開日：中華民國 112 (2023) 年 05 月 01 日

(21) 申請案號：111121637

(22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 06 月 10 日

(51) Int. Cl. :

*C01B32/28 (2017.01)**A61K33/22 (2006.01)**A61K41/00 (2020.01)**A61K47/59 (2017.01)**A61P35/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2021/06/11 日本

2021-098083

(71) 申請人：國立大學法人京都大學 (日本) KYOTO UNIVERSITY (JP)

日本

日商大賽璐股份有限公司 (日本) DAICEL CORPORATION (JP)

日本

(72) 發明人：西川正浩 NISHIKAWA, MASAHIRO (JP)；小松直樹 KOMATSU, NAOKI (JP)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：23 共 74 頁

(54) 名稱

表面改質奈米粒子

(57) 摘要

本發明提供一種表面改質奈米粒子及其製造方法，可容易地製造，且可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持。本發明之表面改質奈米粒子具備奈米碳材料與前述奈米碳材料之表面改質基，且具有含硼原子之基作為前述表面改質基。

The present invention provides a surface-modified nanoparticle which can be easily produced and which can selectively deliver and maintain boron atoms into cancer cells, and manufacturing method thereof. The surface-modified nanoparticle of the present disclosure comprises a nanocarbon material and a surface modification group of the nanocarbon material, and the surface modification group has a group containing a boron atom.

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 表面改質奈米粒子

【英文發明名稱】 SURFACE-MODIFIED NANOPARTICLE

### 【中文】

本發明提供一種表面改質奈米粒子及其製造方法，可容易地製造，且可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持。本發明之表面改質奈米粒子具備奈米碳材料與前述奈米碳材料之表面改質基，且具有含硼原子之基作為前述表面改質基。

### 【英文】

The present invention provides a surface-modified nanoparticle which can be easily produced and which can selectively deliver and maintain boron atoms into cancer cells, and manufacturing method thereof. The surface-modified nanoparticle of the present disclosure comprises a nanocarbon material and a surface modification group of the nanocarbon material, and the surface modification group has a group containing a boron atom.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 表面改質奈米粒子

【英文發明名稱】 SURFACE-MODIFIED NANOPARTICLE

### 【技術領域】

【0001】 本發明所涉及之發明係關於一種表面改質奈米粒子。本申請係主張 2021 年 6 月 11 日於日本申請之特願 2021-098083 號之優先權，並將其內容引用於本文。

### 【先前技術】

【0002】 硼中子捕獲療法(BNCT)係利用藉由硼( $^{10}\text{B}$ )與中子之核反應而放出之  $\alpha$  射線 ( $^4\text{He}$  原子核) 與鋰原子核 ( $^7\text{Li}$  原子核) 來破壞癌細胞的高級癌症治療法之一。由於藉由核反應而產生之  $\alpha$  射線與  $^7\text{Li}$  原子核之可移動距離為數微米左右，幾乎等同於細胞大小，因此若可選擇性地將足夠之硼(硼化合物)積累於癌組織、癌細胞，便可將癌細胞選擇性地殺傷。

【0003】 目前，作為 BNCT 所使用之硼藥劑，臨床上使用有對硼苯丙胺酸(BPA) (專利文獻 1)。已知 BPA 係經由在癌細胞表面發現之 L-胺基酸轉運體(LAT-1)而進入癌細胞，但 BPA 利用 LAT-1 之細胞膜滲透(細胞內進入及排出)為可逆，且因其為低分子化合物而代謝(排出)快，因此為了於中子之照射過程中維持癌細胞內之 BPA 濃度，需要提高細胞外之 BPA 濃度。即，BNCT 需要連續投予高濃度之 BPA。

【0004】為了克服 BPA 之上述問題，研究有可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持之基於奈米粒子之藥劑（奈米藥物），至今為止已報告有各種含硼奈米粒子（非專利文獻 1）。

先前技術文獻

專利文獻

【0005】

專利文獻 1 日本專利特開 2009-51766 號公報

非專利文獻

【0006】

非專利文獻 1 T. Nomoto. et. al., Sci. Adv. 2020, 6, eaaz1722

【發明內容】

發明欲解決之問題

【0007】該等藥劑雖亦有顯示出有希望之結果者，但難以大量生產，或因無法獲得再現性而於品質之觀點上有問題。另外，亦要求於生理學條件下之穩定性之提高。

【0008】因此，本發明之目的在於提供一種表面改質奈米粒子及其製造方法，可容易地製造，且可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持。解決問題之手段

【0009】本發明之發明者等人為了達成前述目的而進行努力研究，結果發現如下表面改質奈米粒子可容易地製造，且生理學條件下之穩定性優異等，該表面改質奈米粒子具備：

奈米碳材料；及

前述奈米碳材料之表面改質基；且

具有含親水性聚合物鏈之基及含硼原子之基作為前述表面改質基。本發明所涉及之發明係基於該等見解而完成。

【0010】本發明係關於一種表面改質奈米粒子，其具備：

奈米碳材料；及

前述奈米碳材料之表面改質基；且

具有含硼原子之基作為前述表面改質基。

【0011】前述奈米碳材料較佳為奈米鑽石粒子。

【0012】作為前述表面改質基，較佳為具有親水性基及含硼原子之基。

【0013】前述親水性基較佳為含親水性聚合物鏈之基。

【0014】作為前述表面改質基，較佳為具有含硼原子及親水性聚合物鏈之基。

【0015】前述親水性聚合物鏈較佳為聚甘油鏈。

【0016】前述聚甘油鏈較佳為羥基之一部分或全部被取代為胺基之聚甘油鏈。

【0017】前述胺基之至少一部分較佳為由具有酸性官能基之化合物保護。

【0018】前述硼原子較佳為經由芳香環而與前述親水性聚合物鏈鏈結。

【0019】前述硼原子較佳為直接鏈結於芳香環。

【0020】 前述芳香環較佳為經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結。

【0021】 前述硼原子與前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基較佳為分別鍵結於構成前述芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子。

【0022】 前述芳香環較佳為經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結，且前述伸烷基胺基中之胺基為三級胺基。

【0023】 前述芳香環較佳為苯環或吡啶環。

【0024】 前述芳香環較佳為具有拉電子基作為取代基。

【0025】 前述拉電子基較佳為氟原子。

【0026】 前述硼原子較佳為以硼酸之形式含有。

【0027】 前述硼原子較佳為富集到  $^{10}\text{B}$ 。

【0028】 前述表面改質奈米粒子較佳為於將 0.5 質量份之前述表面改質奈米粒子調配於 99.5 質量份之 PBS (phosphate buffered saline, 磷酸鹽緩衝液) (pH7.4)/FBS (fetal bovine serum, 胎牛血清) (45/55(v/v)) 溶液中並於 25°C 保存時，以目視判定於 10 分鐘以內實質上未產生凝聚體。

【0029】 另外，本發明中亦對含有前述表面改質奈米粒子之用於硼中子捕獲療法之組成物進行說明。

#### 發明效果

【0030】 本發明之表面改質奈米粒子可容易地製造，且可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持癌細胞內之硼原子之濃度。另外，本發明之表面改質奈米粒子進一步具有親水性基作為表面改質基時，發揮生理學

條件下之穩定性提高之效果。因此，本發明之表面改質奈米粒子可使足夠量之硼原子積累於癌組織、癌細胞，因此可利用硼中子捕獲療法(BNCT)有效殺傷癌組織、癌細胞。

### 【圖式簡單說明】

#### 【0031】

圖 1 係表示 DND-PG 之 FT-IR 光譜 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, 傅立葉轉換紅外光譜) 之圖。

圖 2 係表示 DND-PG 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜 (Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 質子核磁共振光譜) 之圖。

圖 3 係表示 DND-PG-OTs 之 FT-IR 光譜之圖。

圖 4 係表示 DND-PG-OTs 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 5 係表示 DND-PG- $\text{N}_3$  之 FT-IR 光譜之圖。

圖 6 係表示 DND-PG- $\text{N}_3$  之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 7 係表示 DND-PG- $\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  之 FT-IR 光譜之圖。

圖 8 係表示 DND-PG- $\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$  之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 9 係表示 DND-PG-PBA 之 FT-IR 光譜之圖。

圖 10 係表示 DND-PG-PBA 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 11 係表示 DND-PG-PBA-Suc 之 FT-IR 光譜之圖。

圖 12 係表示 DND-PG-PBA-Suc 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 13 係表示 DND-PG-PBA-SucMe 之 FT-IR 光譜之圖。

圖 14 係表示 DND-PG-PBA-SucMe 之  $^1\text{H-NMR}$  光譜之圖。

圖 15 係評估關於 DND-PG-PBA-Suc、DND-PG-PBA-SucMe、及 DND-PG-FPBA-SucMe 之細胞毒性的圖。

圖 16 係關於 DND-PG-PBA-SucMe 之藥物動力之圖。

圖 17 係關於腫瘤與血液中之  $^{10}\text{B}$  濃度及它們之比率 (T/B 比) 的圖。

圖 18 係關於利用 DLS (Dynamic Light Scattering, 動態光散射) 所得之 DND-PG-NH<sub>2</sub> 等各物質之流體力學尺寸的圖。

圖 19 係表示於對 BALB/c 小鼠注射 DND-PG-PBA-SucMe 並照射中子後之 29 天監視腫瘤之大小所得之結果的圖。

圖 20 係表示於對 BALB/c 小鼠注射 DND-PG-PBA-SucMe 並照射中子後之 29 天監視腫瘤之大小所得之結果的圖。

圖 21 係表示於對 BALB/c 小鼠注射 DND-PG-PBA-SucMe 並照射中子後之 29 天監視體重所得之結果的圖。

圖 22 係表示自 DND 至 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 之合成方案之圖。

圖 23 係表示自 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 至 DND-PG-PBA-SucMe 之合成方案之圖。

### 【實施方式】

#### [表面改質奈米粒子]

【0032】本發明之表面改質奈米粒子具備奈米碳材料、及對前述奈米碳材料之表面進行改質之表面改質基。前述表面改質奈米粒子至少具有含硼原子之基作為前述表面改質基。另外，就生理學條件下之穩定性之觀點

而言，較佳為進一步具有親水性基作為前述表面改質基。即，前述表面改質奈米粒子較佳為具有親水性基及含硼原子之基作為前述表面改質基。

【0033】 前述奈米碳材料並無特別限定，例如舉例為：奈米鑽石、奈米石墨烯、石墨烯奈米帶、富勒烯、氧化石墨烯、奈米石墨、奈米碳管、奈米碳絲、洋蔥狀碳、類鑽碳、非晶形碳、碳黑、碳奈米角、碳奈米線圈。其中，就可使硼原子對癌組織、癌細胞充分積累之方面而言，較佳為奈米鑽石。另外，作為奈米鑽石，較佳為粒子狀奈米鑽石（奈米鑽石粒子）。以下，有時將奈米鑽石稱為「ND」。

【0034】 前述奈米鑽石(粒子)並無特別限定，例如可使用爆轟法 ND、高溫高壓法 ND、化學氣相沈積法 ND（將利用 CVD 法所得之鑽石薄膜粉碎而成者）等。其中，就於分散介質中之分散性更優異之方面而言，且就一次粒子之粒徑為個位數之奈米之方面而言，較佳為爆轟法 ND。前述奈米鑽石亦可於其鑽石晶體結構中存在氮-空位中心（NV 中心）、矽-空位中心（SiV 中心）等具有螢光特性、磁特性之缺陷。

【0035】 前述親水性基並無特別限定，例如舉例為：羥基、羧基、磺基、胺基、及含親水性聚合物鏈之基等。其中，就生理學條件下之穩定性進一步提高之觀點而言，較佳為含親水性聚合物鏈之基。即，前述表面改質奈米粒子較佳為具有含親水性聚合物鏈之基及含硼原子之基作為前述表面改質基。

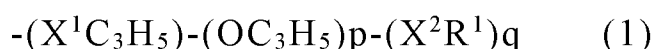
【0036】 前述表面改質奈米粒子具有含親水性聚合物鏈之基及含硼原子之基作為前述表面改質基時，該等基可為同一表面改質基，亦可為不同表面改質基。即，前述親水性聚合物鏈與前述硼原子可存在於 1 個表面改

質基，亦可存在於不同表面改質基。作為前述親水性聚合物鏈與前述硼原子存在於 1 個表面改質基之態樣，舉例為含硼原子及親水性聚合物鏈之基。另外，本發明之表面改質奈米粒子可僅具有一種前述表面改質基，亦可具有兩種以上。

【0037】構成表面改質奈米粒子之 ND 粒子較佳為包含奈米鑽石之一次粒子。另外，亦可包含多個前述一次粒子凝聚（聚集）而成之二次粒子。此外，表面改質奈米粒子之表面（ND 粒子之表面）亦可具有一種或兩種以上之除親水性基及含硼之基以外之官能基。作為此種官能基，例如舉例為：胺基、羥基、及羧基。

【0038】作為前述親水性聚合物鏈，舉例為包含源自具有親水性基之單體之結構單元的聚合物鏈，例如舉例為：聚醚鏈（聚環氧乙烷、聚環氧丙烷、及該等之共聚物等）、聚甘油鏈（ $C_3H_6O(CH_2CH(OH)CH_2O)_n-H$  等）。其中，就生理學條件下之穩定性之觀點而言，較佳為聚甘油鏈。即，前述親水性聚合物鏈較佳為包含聚甘油鏈。

【0039】前述聚甘油鏈較佳為下述式(1)所示之聚甘油鏈。



[式(1)中，p 表示 1 以上之整數，q 表示滿足  $q=p+2$  之整數。X<sup>1</sup> 表示二價基，自[X<sup>1</sup>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]中之 X<sup>1</sup> 向左伸出之鍵結鍵結於奈米碳材料。[X<sup>2</sup>R<sup>1</sup>]表示聚甘油鏈之末端，X<sup>2</sup> 表示單鍵或二價基，R<sup>1</sup> 表示氫原子或一價有機基]

【0040】前述式(1)中之[X<sup>1</sup>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]由[-X<sup>1</sup>-CH<sub>2</sub>-C(-)H-CH<sub>2</sub>-]表示。前述[X<sup>1</sup>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]中之 X<sup>1</sup> 鍵結於奈米碳材料，2 個 C 分別鍵結於[OC<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]中之 O 或

$[X^2R^1]$ 中之  $X^2$ 。前述 $[X^1C_3H_5]$ 中之  $X^1$  表示二價基。另外，較佳為 1 個以上之  $R^1$  為一價有機基， $R^1$  中之 1 個以上之一價有機基含有硼原子。

【0041】作為  $X^1$  中之前述二價基，例如舉例為：胺基(- $NR^a$ -)、醯胺基(- $NR^aC(=O)$ -)、醚鍵(- $O$ -)、酯鍵(- $O-C(=O)$ -)、次磷酸基(- $PH(=O)O$ -)、磷酸基(- $P(OH)(=O)O$ -)、磷酸酯基(- $O-P(=O)(OH)O$ -)、硫鍵(- $S$ -)、羰基(- $C(=O)$ -)、胺基甲酸酯鍵(- $R^aN-C(=O)O$ -)、醯亞胺鍵(- $C(=O)NR^a$ -)、硫羰基(- $C(=S)$ -)、矽氧鍵(- $Si-O$ -)、硫酸酯基(- $O-S(=O)_2O$ -)、磺酸基(- $S(=O)_2O$ -)、磺醯基(- $S(=O)_2$ -)、亞硫醯基(- $S(=O)$ -)、該等 2 個以上鍵結而成之基等。非對稱之二價基中，二價基對於奈米碳材料側及  $R$  側之方向並無特別限制。另外，前述  $R^a$  表示氫原子或一價有機基。作為前述二價基，其中，較佳為- $NR^a$ -、- $O$ -、- $C(=O)O$ -、- $NR^aC(=O)$ -、- $PH(=O)O$ -、- $S$ -，更佳為- $NR^a$ -、- $O$ -、- $NR^aC(=O)$ -、或- $C(=O)O$ -。

【0042】作為  $R^1$  中之前述一價有機基，例如舉例為：經取代或未經取代之烴基（一價烴基，尤其是一價脂肪族或芳香族烴基）、經取代或未經取代之雜環式基（一價雜環式基）、前述一價烴基及/或前述一價雜環式基之 2 個以上鍵結而成之基等。前述鍵結而成之基可直接鍵結，亦可經由連結基鍵結。作為前述連結基，例如舉例為：胺基、醚鍵、酯鍵、次磷酸基、硫鍵、羰基、經有機基取代之醯胺基、經有機基取代之胺基甲酸酯鍵、經有機基取代之醯亞胺鍵、硫羰基、矽氧鍵、該等之 2 個以上鍵結而成之基等。

【0043】前述式(1)中之附加有  $p$  之 $[OC_3H_5]$ 係 $[-O-CH_2-C(-)H-CH_2-]$ 所示之源自甘油之結構，與 $[X^1C_3H_5]$ 一起形成聚甘油鏈。 $p$  表示 $[OC_3H_5]$ 之

重複單元，為 1 以上之整數，較佳為 3~2000，更佳為 5~500，進一步較佳為 10~200。p 於含有前述多條聚甘油鏈之基中可相同亦可不同。

【0044】 前述式(1)中， $[X^2R^1]$ 表示聚甘油鏈之末端，鍵結於 $[X^1C_3H_5]$ 中之 C 或 $[OC_3H_5]$ 中之 C。R<sup>1</sup>表示氫原子或一價有機基。

【0045】 前述 $[X^2R^1]$ 中之 X<sup>2</sup>表示單鍵或二價基。作為前述二價基，舉例為作為上述 $[X^1C_3H_5]$ 中之 X<sup>1</sup>所例示及說明之二價基。另外，X<sup>2</sup>中之 R<sup>a</sup>與 R<sup>1</sup>亦可鍵結而形成環。其中，X<sup>2</sup>較佳為-NR<sup>a</sup>-、-NR<sup>a</sup>C(=O)-、-O-、-C(=O)O-、-O-C(=O)-、-PH(=O)O-、-O-P(=O)(OH)-O-、-S-、-O-S(=O)<sub>2</sub>-O-、-O-S(=O)<sub>2</sub>-，更佳為-NR<sup>a</sup>-或-O-。前述 $[X^1C_3H_5]$ 中之 X<sup>1</sup>與前述 $[X^2R^1]$ 中之 X<sup>2</sup>可相同亦可不同。前述多個 $[X^2R^1]$ 可相同亦可不同。另外，前述 $[X^2R^1]$ 中之 X<sup>2</sup>於含有前述多條聚甘油鏈之基中可相同亦可不同。q 表示 3 以上之整數，其值依存於 p 之值，滿足  $q = p + 2$ 。q 於含有前述多條聚甘油鏈之基中可相同亦可不同。

【0046】 前述 R<sup>1</sup>為一價有機基時，前述式(1)中之多個 R<sup>1</sup>可相同亦可不同。作為前述一價有機基，舉例為作為前述 R<sup>a</sup>中之一價有機基所例示及說明者。其中，舉例為經取代或未經取代之烴基（一價烴基）、經取代或未經取代之雜環式基（一價雜環式基）、及該等之 2 個以上鍵結而成之基等。另外，前述一價有機基亦可具有離子之形態。

【0047】 前述鍵結而成之基可直接鍵結，亦可經由連結基鍵結。前述經取代或未經取代之烴基中之烴基較佳為烷基，更佳為碳數 1~18 之烷基，進一步較佳為碳數 1~6 之烷基，尤佳為乙基、丙基、丁基、或己基。

【0048】作為 $[X^2R^1]$ 之具體例，舉例為：OH、 $NH_2$ 、 $CH_3$ 、烷氧基、醯基、單或二烷基胺基、單或二烯基胺基、烷基醯胺基、烯基醯胺基、經四級銨取代之烷氧基、經氮取代之烷氧基、聚環氧烷基、環狀醯亞胺基、經羧基取代之烷基胺基、經羧基取代之烷氧基、含硼原子之基等。2個以上之前述 $[X^2R^1]$ 亦可經由 $R^1$ 而形成環。其中，就表面改質奈米粒子之水分散性更優異之觀點及硼原子之導入容易之觀點而言，較佳為環狀醯亞胺基、經羧基取代之烷基胺基、含硼原子之基。

【0049】前述聚甘油鏈中之甘油之數量平均聚合度為3~2000，更佳為5~500，進一步較佳為10~200。若前述數量平均聚合度大，則奈米鑽石粒子等奈米碳材料間之相互之排斥力充分作用，可更進一步提高奈米碳材料之分散性。若前述數量平均聚合度為5000以下，則於奈米鑽石粒子等奈米碳材料間抑制聚甘油鏈彼此交纏，可進一步提高奈米碳材料於水中之分散性。另外，前述數量平均聚合度係由對作為原料之奈米鑽石等奈米碳材料之表面官能基所鍵結之基中構成聚甘油鏈的去水甘油單元之數來定義，前述表面官能基數可藉由前述原料之元素分析值測定或酸值之測定、或者該等兩者之組合測定而求出。

【0050】作為前述聚甘油鏈，較佳為前述聚甘油鏈中之羥基之一部分或全部被取代為胺基之聚甘油鏈（以下稱為「經氮取代之聚甘油鏈」）。作為前述經氮取代之聚甘油鏈，舉例為前述式(1)所示之聚甘油鏈中之至少一部分 $X^2$ 為胺基者。

【0051】關於前述經氮取代之聚甘油鏈中之前述胺基，以表面改質奈米粒子於血中之分散性提高（於血中不易凝聚）為目的，其至少一部分亦

可由具有酸性官能基之化合物保護。作為此種聚甘油鏈，舉例為前述式(1)所示之聚甘油鏈中至少一部分  $X^2$  為胺基(-NR<sup>a</sup>-)，且至少一部分 R<sup>a</sup> 為保護基者。作為前述酸性官能基，舉例為羧基、磺酸基等。作為含有前述酸性官能基之化合物，具體而言，舉例為：草酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、及己二酸等二羧酸；草酸酐、琥珀酸酐、順丁烯二酸酐、鄰苯二甲酸酐、及苯甲酸酐等酸酐；硫酸等具有磺酸基之化合物。其中，就形成醯胺鍵且於末端具有羧基，表面改質奈米粒子於血中之分散性更進一步提高之觀點而言，較佳為酸酐。作為其他保護基，舉例為：甲基、乙基、丙基等烷基；苄基、苯基等環烷基。

【0052】 前述表面改質奈米粒子較佳為具有含硼原子及親水性聚合物鏈之基作為表面改質基。此時，前述硼原子較佳為經由前述親水性聚合物鏈而鍵結於奈米碳材料。另外，前述硼原子更佳為經由芳香環而鍵結於前述親水性聚合物鏈。前述硼原子可直接鍵結於前述芳香環，亦可經由其他連結基鍵結，較佳為直接鍵結，尤其是鍵結於構成前述芳香環之碳原子。前述芳香環可僅具有一種，亦可具有兩種以上。

【0053】 作為前述芳香環，舉例為芳香族烴環及芳香族雜環。作為前述烴環，舉例為：苯環、萘環等 C<sub>6-14</sub> 烴環（尤其是 C<sub>6-10</sub> 烴環）等。作為前述芳香族雜環，舉例為：構成環之原子中具有碳原子與至少一種雜原子（例如，氧原子、硫原子、氮原子等）之環、該等之稠環等。

【0054】 前述芳香環較佳為 4~10 員環，更佳為 6 員環。作為 6 員環之芳香環，例如舉例為：苯環、吡啶環等。

【0055】 前述芳香環可具有取代基，亦可不具有。作為前述取代基，例如舉例為：氟原子、氯原子、溴原子、碘原子等鹵素原子；羥基；巰基；羧基；胺基；側氧基等。其中，作為前述取代基，較佳為具有氟原子等拉電子基。前述拉電子基較佳為於前述芳香環上相對於硼原子之鍵結位置而存在於間位。另外，前述取代基相當於後述之式(2)中之  $R^3$ 。

【0056】 前述芳香環較佳為經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結。即，較佳為經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基、或構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結。此時，就 ND 之分散性提高之方面而言，有生理學條件下之穩定性優異之傾向。另外，關於前述伸烷基氧基中之氧原子可利用前述聚甘油鏈中之氧原子而容易地製作前述表面改質奈米粒子，關於前述伸烷基胺基中之氮原子可利用前述經氮取代之聚甘油鏈中之氮原子而容易地製作前述表面改質奈米粒子。

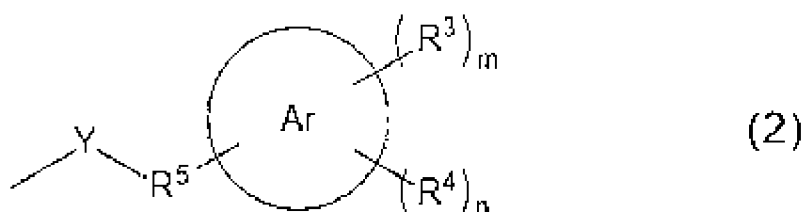
【0057】 作為前述伸烷基氧基及前述伸烷基胺基中之伸烷基，例如舉例為：亞甲基、伸乙基、伸丙基、及三亞甲基等。就表面改質奈米粒子之分散性提高之觀點而言，前述伸烷基較佳為碳數 1~6 之伸烷基，更佳為碳數 1~3 之伸烷基，進一步較佳為亞甲基。

【0058】 前述伸烷基胺基中之胺基可為二級胺基，亦可為三級胺基。前述胺基為三級胺基時，於前述胺基中之氮原子上具有前述伸烷基、前述親水性聚合物鏈、及一價有機基。作為前述一價有機基，舉例為羥基，其中，較佳為烷基，更佳為碳數 1~6 之烷基，進一步較佳為碳數 1~3 之烷基，尤佳為甲基。另外，前述一價有機基相當於後述之式(2)中之  $R^5$ 。

【0059】 前述硼原子與前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基較佳為分別鍵結於構成前述芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子。即，前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基較佳為於前述芳香環上相對於前述硼原子之鍵結位置而存在於鄰位。另外，此時，前述拉電子基較佳為相對於前述硼原子之鍵結位置而存在於具有前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基之一側的間位。

【0060】 使用下述式(2)所示之基，對前述硼原子直接鍵結於構成前述芳香環之碳原子，前述芳香環經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結的態樣進行說明。

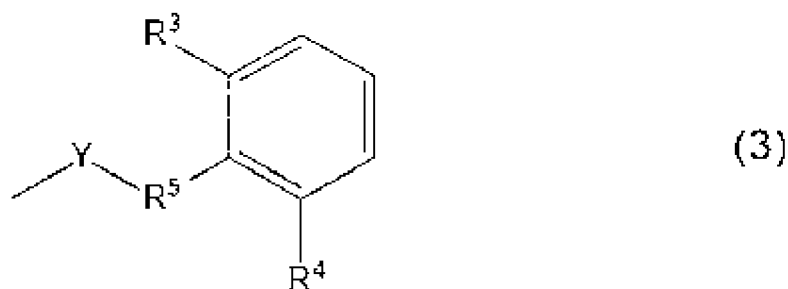
【0061】 ◎〔化1〕



【0062】 式(2)中，Ar 表示芳香環， $R^3$  為前述芳香環可具有之取代基，例如較佳為拉電子基。 $m$  為 0 以上之整數。 $R^4$  為含硼原子之基，且前述硼原子直接鍵結於構成前述芳香環之碳原子。 $n$  為 1 以上之整數。 $R^5$  表示伸烷基，且為與前述伸烷基氧基及前述伸烷基胺基中之伸烷基相同之基。 $Y$  為氧原子、NH、或  $NR^6$ 。 $R^6$  為一價有機基。自  $Y$  向左伸出之鍵結鍵與親水性聚合物鏈（較佳為聚甘油鏈）鍵結。

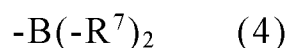
【0063】 前述式(2)所示之基尤佳為下述式(3)所示之基。

【0064】 ◎〔化2〕



【0065】式(3)中， $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 及Y與式(2)中所說明者相同。式(3)中，示出 $R^4$ 之硼原子與伸烷基氧基或伸烷基胺基分別鍵結於構成芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子的態樣。

【0066】前述含硼原子之基中，硼原子亦可鍵結有氫原子、羥基、胺基、磺基、或一價有機基、其他取代基。作為前述含硼原子之基，例如舉例為下述式(4)所示之基。



【0067】式(4)中， $R^7$ 分別相同或不同地表示氫原子、羥基、胺基、磺基、或一價有機基。另外，2個 $R^7$ 亦可相互鍵結而形成環（含烴環）。2個 $R^7$ 相互鍵結而形成環時，前述環亦可經由氧原子而形成環。另外，構成前述環之碳亦可與相鄰之碳原子形成雙鍵。另外，構成前述環之碳數並無特別限定，例如較佳為4~12，更佳為4~10，進一步較佳為4~6。

【0068】作為前述一價有機基，舉例為羥基，其中，較佳為烷基，更佳為碳數1~6之烷基，進一步較佳為碳數1~3之烷基，尤佳為甲基。

【0069】作為前述式(3)所示之基，具體而言，舉例為：硼酸( $-B(OH)_2$ )、硼烷( $-BH_2$ )等 $R^7$ 為氫原子或羥基者，尤佳為 $R^7$ 為羥基之硼酸。即，本發明之表面改質奈米粒子中，硼原子較佳為以硼酸之形式含有。

【0070】本發明之表面改質奈米粒子中之硼原子之含量並無特別限定，例如較佳為 0.1 質量%以上，更佳為 0.5 質量%以上，進一步較佳為 1.0 質量%以上，尤佳為 1.5 質量%以上。藉由使硼原子之含量存在於前述範圍內，有生理學條件下之穩定性優異，可將硼原子選擇性地送達至癌細胞內，同時保持之傾向。前述硼原子之含量例如為 10.0 質量%以下。

【0071】前述硼原子可為  $^{10}\text{B}$ 、 $^{11}\text{B}$  等任一同位素，並無特別限定。其中，前述硼較佳為富集到  $^{10}\text{B}$ 。

【0072】本發明之表面改質奈米粒子中之 ND 相對於表面改質基之質量比[ND/本發明之表面改質基]並無特別限定，較佳為 0.2~1.5，更佳為 0.2~1.0。若前述質量比為 0.2 以上，則不易損害作為奈米鑽石材料之特性。若前述質量比為 1.5 以下（尤其是 1.0 以下），則表面改質基之改質度充分，生理條件下之分散性更優異。前述質量比係基於硼取代基導入前之樣品之藉由熱重分析所測定的重量減少率，將設減少之重量為硼取代基導入前之含聚甘油鏈之表面改質基的質量再加上導入其中之硼取代基之重量所得者與殘存之 ND 之重量進行比較而求出。

【0073】本發明之表面改質奈米粒子之體積平均粒徑(MV)例如為 200 nm 以下，較佳為 100 nm 以下，更佳為 60 nm 以下。表面改質奈米粒子之平均粒徑(MV)之下限例如為 5 nm。表面改質奈米粒子之平均粒徑可使用動態光散射法進行測定。

【0074】本發明之表面改質奈米粒子可用於腫瘤疾病之硼中子捕獲療法。

【0075】 作為本說明書中之「腫瘤疾病」，舉例為：惡性黑色素瘤（黑色素瘤）、腎癌、前列腺癌、乳癌、肺癌、胰腺癌、結腸直腸癌、肝細胞癌、膽道癌、胃癌、卵巢癌、食道癌、尿路上皮癌、結腸癌、骨癌、皮膚癌（例如惡性皮膚癌）、頭頸癌、直腸癌、肛門癌、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、宮頸癌、陰道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、甲狀旁腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、兒童固態癌症、膀胱癌、惡性胸膜間皮瘤、腦瘤（例如惡性腦瘤）、中樞神經系統腫瘤等。

【0076】 使用前述表面改質奈米粒子之硼中子捕獲療法例如藉由如下方式進行：對患有腫瘤疾病之哺乳動物（例如人），利用如使化合物積累於目標部位之任意適當之投予路徑投予含有前述表面改質奈米粒子之藥劑。前述表面改質奈米粒子較佳為選擇性地積累於腫瘤。含有化合物之製劑可一次性投予，或依次投予。亦可視需要重複製劑之投予。

【0077】 前述表面改質奈米粒子到達腫瘤內之後，對該部位照射有效量之熱中子束或超熱中子束之類的低能量中子束。可透過皮膚照射該部位，或者亦可將該部位於照射前完全或局部暴露後進行照射。亦可視需要重複前述表面改質奈米粒子之投予與後續之熱中子束或超熱中子束之照射。

【0078】 前述表面改質奈米粒子之投予路徑較佳為靜脈內投予、動脈內投予、肌肉內投予、皮下投予、皮內投予、脊髓內投予、腹腔內投予。

【0079】 前述表面改質奈米粒子可於熱中子束或超熱中子束照射前之72小時以內（較佳為5分鐘~48小時前，更佳為30分鐘~30小時前），對患有腫瘤疾病之哺乳動物投予。另外，亦可視需要於熱中子束或超熱中子束之照射過程中投予。前述表面改質奈米粒子之代表性用量較佳為每次照

射熱中子束或超熱中子束時在 0.01 mg~5000 mg/體重 kg 之範圍內。以硼-10( $^{10}\text{B}$ )換算計，較佳為每次照射熱中子束或超熱中子束時在 0.005 mg~1000 mg/體重 kg 之範圍內。一次熱中子束或超熱中子束之照射時間較佳為 1 分鐘~5 小時，更佳為 10 分鐘~2 小時。熱中子束或超熱中子束之照射量並無特別限定，通常只要為中子捕獲療法所使用之照射量即可。

【0080】使用前述表面改質奈米粒子之硼中子捕獲療法可用作單獨之治療，或者亦可與以往之手術或化學療法一起應用。若需要的話，亦可將腫瘤於外科上去除至可行程度之後，利用使用前述表面改質奈米粒子之硼中子捕獲療法將剩餘之腫瘤破壞。

【0081】含有前述表面改質奈米粒子之組成物可用於硼中子捕獲療法。前述組成物可直接使用前述表面改質奈米粒子作為有效成分，亦可添加醫藥上可容許之添加劑等進行製劑化。另外，如上所述亦可含有 BPA、BSH (sodium borocaptate，巰基十二硼烷二鈉鹽) 之類的其他硼化合物。

【0082】作為前述添加劑，並無特別限定，例如舉例為：純化水、鹽水、磷酸緩衝液、右旋糖、甘油、乙醇等醫藥上可容許之有機溶劑、動植物油、葡萄糖、甘露糖、果糖、半乳糖、山梨糖醇、甘露醇、結晶纖維素、羥丙基纖維素、澱粉、玉米澱粉、矽酸酐、矽酸鋁鎂、膠原蛋白、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、羧基乙烯基聚合物、羧甲基纖維素鈉、聚丙烯酸鈉、海藻酸鈉、水溶性葡聚糖、羧甲基澱粉鈉、果膠、甲基纖維素、乙基纖維素、黃原膠、阿拉伯樹膠、黃蓍膠、酪蛋白、瓊脂、聚乙二醇、二甘油、甘油、丙二醇、凡士林、石蠟、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、肉豆蔻酸異丙酯、高級醇、硬脂醇、硬脂酸、及人血清白蛋白等。

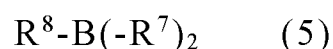
【0083】 前述表面改質奈米粒子亦可與藥學上容許之溶劑、賦形劑、黏合劑、穩定劑、分散劑等藥學上容許之載體一起製劑化成注射用溶液、懸浮液、乳劑、霜劑、軟膏劑、吸入劑、栓劑等非經口劑形。前述表面改質奈米粒子較佳為製劑化成注射用溶液。

【0084】 注射用溶液可於藥學上許可之溶劑中製造成前述表面改質奈米粒子之溶液。而且，該等溶液亦可含有穩定成分及/或緩衝成分。另外，注射用溶液亦可為於使用前加入適當之溶劑而使用之乾燥製劑。

[表面改質奈米粒子之製造方法]

【0085】 本發明之表面改質奈米粒子可藉由使奈米碳材料（例如 ND 粒子）、親水性聚合物及含硼化合物反應而製造。親水性聚合物與含硼化合物對於奈米碳材料之反應可同時，亦可分別進行。例如，可使奈米碳材料與親水性聚合物反應之後，使所得之反應產物與含硼化合物反應，亦可使奈米碳材料與含硼化合物反應之後，使所得之反應產物與親水性聚合物反應。另外，亦可使奈米碳材料、親水性聚合物及含硼化合物同時反應。其中，就可容易獲得目標之表面改質奈米粒子之觀點而言，較佳為使奈米碳材料與親水性聚合物反應之後，使所得之反應產物與含硼化合物反應。

【0086】 作為前述含硼化合物，並無特別限定，例如根據要導入硼原子之態樣而適當選擇，例如舉例為對應於前述式(4)所示之基之化合物，具體而言為下述式(5)所示之化合物。



【0087】 式(5)中， $R^7$  與式(4)所示者相同。 $R^8$  表示氫原子或一價有機基。

【0088】 作為前述一價有機基，舉例為上述者。其中，較佳為具有芳香環。就製造之容易性及生理學條件下之穩定性之觀點而言，前述含硼化合物較佳為 2-甲醯基苯硼酸（鄰溴苯甲醛）。

【0089】 前述親水性聚合物只要為包含源自具有親水性基之單體之結構單元之聚合物，則並無特別限定，例如舉例為：聚醚（聚環氧乙烷、聚環氧丙烷、該等之共聚物等）、聚甘油（ $C_3H_6O(CH_2CH(OH)CH_2O)_n-H$  等）。另外，前述聚甘油亦可為羥基之一部分或全部被取代為胺基之聚甘油。

【0090】 親水性聚合物及含硼化合物可分別僅使用一種，亦可使用兩種以上。

【0091】 奈米碳材料與親水性聚合物之反應並無特別限定，可利用公知慣用之方法實施。以下，以使用聚甘油作為親水性聚合物之情況為例來進行具體說明。

【0092】 利用聚甘油對奈米碳材料之表面改質方法並無特別限定，例如可藉由使去水甘油對於奈米碳材料進行開環聚合而獲得。若舉 ND 粒子為奈米碳材料之例來進行說明，則 ND 粒子於其製造過程中自然於粒子表面便具有羧基、羥基等，因此就使該等官能基與去水甘油反應，可利用聚甘油鏈對 ND 粒子表面進行改質。

【0093】 ND 粒子與去水甘油之反應（開環聚合）例如可藉由如下方式進行：於惰性氣體環境下對 ND 粒子添加去水甘油及溶劑，並加熱至 50~150°C。作為溶劑，例如可使用碳數 2~4 之脂肪族醇溶劑。作為前述碳數 2~4 之脂肪族醇溶劑，可使用國際公開編號 WO2021/039521A1 中所記載者。

【0094】反應亦可使用觸媒。作為觸媒，可使用酸性觸媒，亦可使用鹼性觸媒。作為酸性觸媒，舉例為：三氟化硼合乙醚、乙酸、磷酸等。作為鹼性觸媒，舉例為：三乙基胺、吡啶、二甲基胺基吡啶、三苯基膦等。

【0095】關於去水甘油之開環聚合條件，可適當參照 S. R. Sandler 等人之 J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed., Vol. 4, 1253(1966)、E. J. Vanderberg 之 J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed., vol. 23, 915 (1985)、G. R. Newcome 等人之 Dendritic Macromolecules: Concepts, Syntheses, Perspectives, VCH, Weinheim (1996)等。

【0096】另外，經聚甘油鏈進行表面改質後之 ND 粒子亦可藉由使去水甘油對表面導入有含活性氫之官能基之 ND 粒子進行開環聚合而獲得。作為含活性氫之官能基，並無特別限定，例如舉例為：胺基、羥基、羧基、巰基（硫醇基）、次磷酸基等。作為對 ND 粒子導入前述含活性氫之官能基之方法，可參照日本專利特開 2012-82103 號公報、日本專利特開 2010-248023 號公報等。去水甘油對前述表面導入有含活性氫之官能基之 ND 粒子的開環聚合可與去水甘油對上述 ND 粒子之開環聚合同樣地進行。

【0097】奈米碳材料與含硼化合物之反應並無特別限定，可利用公知慣用之方法實施。若舉 ND 粒子為奈米碳材料之例來進行說明，則可藉由與使作為親水性聚合物之聚甘油與 ND 粒子反應之情況同樣地，使存在於 ND 粒子之表面之羧基、羥基等官能基與含硼化合物反應，而導入含硼原子之基。

【0098】於本發明之表面改質奈米粒子利用使 ND 粒子與親水性聚合物反應之後，使所得之反應產物與含硼化合物反應而獲得之方法進行製造

時，含硼化合物可與前述反應產物中之親水性聚合物鏈反應，亦可與存在於 ND 粒子之表面之官能基反應。於前者之反應之情況下，本發明之表面改質奈米粒子具有經由親水性聚合物鏈而鏈結有硼原子之表面改質基，於後者之反應之情況下，本發明之表面改質奈米粒子於 ND 粒子表面上具有含硼原子之基作為表面改質基。

【0099】關於使 ND 粒子與親水性聚合物反應之後，使所得之反應產物與含硼化合物反應而獲得之方法，以下舉例使用聚甘油作為親水性聚合物之情況來進行說明。

【0100】利用聚甘油對 ND 粒子之表面改質方法如上所述。於所得之 ND 粒子與含硼化合物之反應中，以提高其反應性為目的，亦可將聚甘油鏈之末端氧原子取代為氮原子。另外，為了避免本發明之表面改質奈米粒子之凝聚，亦可於與含硼化合物之反應後利用保護基保護前述氮原子。作為前述保護基，例如舉例為源自具有上述酸性官能基之化合物之基，具體而言，舉例為甲基、琥珀醯基、硫酸基、磷酸基等。

【0101】另外，作為表面改質前之 ND 粒子，其製造法並無特別限定，例如可使用爆轟法 ND（即，利用爆轟法生成之 ND，有時稱為「DND」）、高溫高壓法 ND（即，利用高溫高壓法生成之 ND）、化學氣相沈積法 ND（將利用 CVD 法所得之鑽石薄膜粉碎而成者）等。其中，就於分散介質中之分散性更優異之方面而言，即就一次粒子之粒徑為個位數之奈米之方面而言，較佳為爆轟法 ND。

【0102】表面改質前之 ND 粒子之平均粒徑並無特別限定，例如為 100 nm 以下，較佳為 50 nm 以下，更佳為 30 nm 以下，尤佳為 10 nm 以下。

表面改質前之 ND 粒子之平均粒徑之下限例如為 0.1 nm。表面改質奈米粒子之平均粒徑可使用動態光散射法進行測定。

【0103】本說明書中所揭示之各種態樣亦可與本說明書中所揭示之其他任意特徵組合。各實施方式中之各構成及它們之組合等為一例，可於不脫離本發明之主旨之範圍內適當進行構成之附加、省略、替換及其他變更。另外，本發明之各發明並不由實施方式及以下實施例限定，僅由申請專利範圍限定。

#### 實施例

【0104】以下，基於實施例更詳細地說明本發明，但本發明並不受實施例之限定。

【0105】經過下述步驟而製造表面改質 ND。

(爆轟法 ND、「DND」之製作)

【0106】將對錐形裝藥安裝電雷管而成者設置於爆轟用耐壓性容器之內部並將容器密閉。容器為鐵製，容器之容積為 15m<sup>3</sup>。作為炸藥，使用 TNT (Trinitrotoluene，三硝基甲苯) 與 RDX (海掃更) 之混合物 0.50 kg。該炸藥中之 TNT 與 RDX 之質量比(TNT/RDX)為 50/50。然後，引爆電雷管，於容器內使炸藥爆炸 (利用爆轟法所得之 ND、DND 之生成)。接著，於室溫放置 24 小時，藉此使容器及其內部降溫。於該放冷之後，進行利用刮刀刮取附著於容器內壁之 DND 粗產物 (含有 DND 粒子之聚集體與黑灰) 之作業，回收 DND 粗產物。

【0107】對藉由進行多次上述步驟而獲得之 DND 粗產物實施酸處理步驟。具體而言，對 DND 粗產物 200g 添加 6L 之 10 質量%鹽酸，對於如

此獲得之漿料於常壓條件之回流下進行 1 小時之加熱處理。該酸處理中之加熱溫度為 85~100°C。然後，進行冷卻後，藉由傾析進行固形物(含有 DND 聚集體與黑灰)之水洗。反復進行利用傾析對前述固形物之水洗直至沈澱液之 pH 自低 pH 側達到 2 為止。

【0108】 然後，進行氧化處理步驟。具體而言，對酸處理後之經過傾析而獲得之沈澱液(含有 DND 聚集體)添加 6L 之 98 質量%硫酸與 1L 之 69 質量%硝酸而製成漿料之後，對於該漿料於常壓條件之回流下進行 48 小時之加熱處理。該氧化處理中之加熱溫度為 140~160°C。然後，進行冷卻後，藉由傾析進行固形物(含有 DND 聚集體)之水洗。水洗最初之上清液有著色，反復進行利用傾析對前述固形物之水洗直至上清液以目視成為透明為止。

【0109】 然後，對於經過上述水洗處理而獲得之沈澱液(含有 DND 聚集體之液體)，進行乾燥步驟而獲得乾燥粉體(DND 聚集體)。作為乾燥步驟中之乾燥處理之方法，採用使用蒸發器進行之蒸發乾固。

【0110】 然後，將經過上述乾燥步驟而獲得之乾燥粉體(DND 聚集體) 4.5g 於氣體環境爐(商品名「氣體環境管式爐 KTF045N1」，Koyo Thermo Systems 股份有限公司)之爐管內靜置，且於爐管內以流速 1L/min 持續流通氮氣 30 分鐘之後，將流通氣體自氮氣替換成氧氣與氮氣之混合氣體，使前述混合氣體以流速 1L/min 於爐管內持續流通。混合氣體中之氧氣濃度為 4 體積%。替換成混合氣體之後，使爐內升溫至作為加熱設定溫度之 400°C。關於升溫速度，自較加熱設定溫度低 20°C 至 380°C 為止時設為 10°C/min，之後自 380°C 至 400°C 為止時設為 1°C/min。然後，一邊將爐內

之溫度條件維持於 400°C，一邊對爐內之 DND 粉體進行氧氣氧化處理。處理時間設為 3 小時。

【0111】然後，繼續使用上述氣體環境爐進行氫化步驟。具體而言，對於內部配置有經過氧氣氧化步驟之 DND 粉體之氣體環境爐，以流速 1L/min 持續流通氮氣 30 分鐘之後，將流通氣體自氮氣替換成氫氣與氮氣之混合氣體，使前述混合氣體以流速 1L/min 於爐管內持續流通。混合氣體中之氫氣濃度為 2 體積%。切換成混合氣體之後，使爐內升溫至加熱設定溫度 600°C。升溫速度設為 10°C/min。然後，一邊將爐內之溫度條件維持於 600°C，一邊對爐內之 DND 粉體進行氫化處理。處理時間設為 5 小時。如此，獲得經過氫化處理之 DND 粉體。

【0112】然後，進行粉碎步驟。具體而言，首先將經過上述氫化步驟之 DND 粉體 0.9g 與純水 29.1 ml 加入 50 ml 之樣品瓶中進行混合，獲得漿料約 30 ml。使用 1N 之鹽酸將 pH 調整為 4 之後，對前述漿料實施超音波處理。超音波處理中，使用超音波照射器（商品名「超音波清洗機 AS-3」，AS ONE 公司製造）對前述漿料進行 2 小時之超音波照射。然後，使用珠磨裝置（商品名「平行四筒式磨砂機 LSG-4U-2L 型」，AIMEX 股份有限公司）進行珠磨。具體而言，對 100 ml 之作為研磨容器之容器(vessel)（AIMEX 股份有限公司）投入超音波照射後之漿料 30 ml 與直徑 30  $\mu\text{m}$  之氧化鋯珠並密封，驅動裝置來實施珠磨。該珠磨時，氧化鋯珠之投入量相對於研磨容器之容積而例如為 33 體積%，研磨容器之轉速為 2570 rpm，研磨時間為 2 小時。

【0113】 然後，對於經過此種粉碎步驟之漿料，使用離心分離裝置進行離心分離處理（分級操作）。該離心分離處理過程中之離心力設為  $20000\times g$ ，離心時間設為 10 分鐘。然後，回收經過前述離心分離處理之含 DND 之溶液之上清液 10 ml。如此，獲得奈米碳材料分散於純水中之 DND 分散液。關於該奈米碳材料分散液，固形物濃度為 2.1 質量%，pH 為 5.40。如此獲得之 DND 分散液之中值粒徑（粒徑 D50）為 35.8 nm。

（經聚甘油進行表面改質後之 DND、「DND-PG」之製作）

【0114】 對於經過上述粉碎步驟所得之 DND 粒子水分散液，使用蒸發器將 DND 之水性分散液濃縮成固體殘留物，於  $105^{\circ}\text{C}$  乾燥 2 小時。使所得之 DND 粉末(1.0g)懸浮於乙二醇(15.0g)中，花費 105 分鐘滴下去水甘油(45.1 g,0.61mol)，將溫度維持於  $95\sim 102^{\circ}\text{C}$  之範圍。將所得之黑色之分散液於相同溫度攪拌 4 小時，然後於室溫攪拌一晚。緩緩加入水(40 mL)，將未反應之去水甘油分解，然後將分散液以水稀釋成 400 mL。之後，利用超濾膜（Ultracel 膜，30kDa）濃縮成 20 mL。稀釋濃縮物，再次進行濃縮，藉由將該操作反復進行 5 次來進行清洗，而獲得作為黑色水分散液之精製 DND-PG。產量為 100.1g（DND-PG 之含量為 5.08 質量%，5.08g）。使分散液之一部分於經加熱之 PTFE（Polytetrafluoroethylene，聚四氟乙烯）片上乾燥，而獲得分析用樣品。以下示出各分析結果。

【0115】

FT-IR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3332, 2918, 2875, 1458, 1118, 1078(C-O)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta\text{ppm}$ 3.42, 3.50, 3.58, 3.75, 3.88(C3 單元)

元素分析: C: 55.72%; H: 7.06%; N: 0.57%; O: 36.86%

TGA (空氣環境下, 20°C/min, %重量損失) : 383-541°C : 75.4% ;  
541-790°C : 18.6% (比率(PG/DND)推定為 4.1)

【0116】 所得之 DND-PG 分別如圖 1 及圖 2 所示, 藉由 FT-IR 及溶液中之 <sup>1</sup>H-NMR 確認到其結構。FT-IR 光譜中, 觀察到 3333 cm<sup>-1</sup> 下之 O-H 之伸縮所引起的吸收、2918 及 2876 cm<sup>-1</sup> 下之 C-H 非對稱及對稱伸縮、1118 及 1078 cm<sup>-1</sup> 下之 PG 鏈之 C-O-C 非對稱及 C-O 伸縮。<sup>1</sup>H-NMR 中, 3~4 ppm 之訊號表示 PG 鏈上之所有氫原子位於與羥基、醚鍵等氧官能基鄰接之碳上。

(DND-PG-OTs 之製作)

【0117】 使 DND-PG 之水分散液 39.4g (DND-PG 之含量為 5.08 質量%、2.0g) 進行蒸發乾固。將殘留物溶解於吡啶(20 mL), 進行蒸發乾固, 且利用共沸蒸餾將殘留之水分去除。重複該操作 1 次之後, 將殘留物溶解於吡啶(30 mL)並冰冷。對該溶液添加對甲苯磺醯氯(Ts-Cl, 3.9 g, 20.2 mmol) 及 N,N-二甲基胺基吡啶(DMAP, 0.10 g, 0.84 mmol)。將反應混合物於室溫攪拌 24 小時。添加水(30 mL), 藉由以 30,000g 離心分離 10 分鐘而分離沈澱物。用含有少量四氫呋喃(THF)之水將沈澱物清洗 2 次並進行離心分離。利用相同方法以 THF-甲苯清洗 2 次。將沈澱物於 40°C 真空乾燥, 而獲得黑色之固體。產量為 3.91g。以下示出各分析結果。

【0118】

FT-IR(擴散反射法, cm<sup>-1</sup>) : 3342, 2920, 2878, 1597, 1362, 1177(SO<sub>2</sub>),  
929, 815, 667, 553

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta\text{ppm}$ 3.39-4.61(C3 單元), 2.31(-OT 之  $\text{CH}_3$ ), 7.24, 7.67(-OT 之芳香環)

元素分析 : C : 55.88% ; H : 5.30% ; N : 0.32% ; O : 27.20% ; S : 10.50%

【0119】 關於所得之 DND-PG-OTs, FT-IR 中, 確認到基於磺酸酯之  $\text{SO}_2$  之非對稱及對稱伸縮振動的  $1362$  及  $1177\text{ cm}^{-1}$  之波峰 (圖 3)。 $^1\text{H-NMR}$  中, 觀察到  $7.67$  及  $7.24\text{ ppm}$  之苯環與  $2.31\text{ ppm}$  之甲基之訊號 (圖 4)。

(DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 之製作)

【0120】 然後, 利用疊氮基取代甲苯磺醯基, 將所獲得之 DND-PG-N<sub>3</sub> 藉由利用三苯基膦( $\text{PPh}_3$ )之史陶丁格(Staudinger)反應還原為胺基而獲得 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl。利用 FT-IR (圖 5 及圖 7)、 $^1\text{H-NMR}$  (圖 6 及圖 8) 以及元素分析確認 DND-PG-N<sub>3</sub> 與 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 各自之結構及各官能基之導入量。以下說明具體操作。

【0121】 將疊氮化鈉( $\text{NaN}_3$ , 0.66 g, 10.2 mmol)添加至 DMF (Dimethylformamide, 二甲基甲醯胺) (20 mL)中之 DND-PG-OTs(2.0g) 之溶液。將反應物於  $60^\circ\text{C}$  攪拌 3 小時, 然後於  $90^\circ\text{C}$  攪拌 19 小時。添加水 (20 mL), 藉由以  $30,000\text{g}$  離心分離 10 分鐘而分離沈澱物。用含有少量 THF 之水將沈澱物清洗 2 次並進行離心分離。利用相同方法以 THF-甲苯清洗 2 次。將沈澱物於  $40^\circ\text{C}$  真空乾燥, 而獲得黑色之固體。產量為 0.67g。以下示出各分析結果。

【0122】

FTIR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3338, 2916, 2872, 2102(疊氮), 1276, 1120

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$ ppm3.54(C3 單元)

元素分析 : C : 53.59% ; H : 5.04% ; N : 19.40% ; O : 21.68%

TGA ( 空氣環境 , 20°C/min , %重量損失 ) : 230-587°C : 71.2% ; 587-794°C : 25.9%

【0123】 然後，將 DND-PG- $\text{N}_3$ (257 mg)溶解於 DMF(12 mL)中，並超音波處理 15 分鐘。向分散液中，添加水(1.0 mL)、三苯基膦( $\text{PPh}_3$ ,798 mg,3.00 mmol)及濃氨水(0.50 mL)，於 60°C攪拌 24 小時。將反應混合物濃縮成一半體積。添加水(10 mL)及 6M HCl(1.0 mL)之後，利用乙酸乙酯(AcOEt,20 mL)萃取三苯基氧化膦。水相進一步用 AcOEt 清洗 2 次，然後用水稀釋成 400 mL，用超濾膜 (Ultracel 膜，30kDa) 濃縮成小於 10 mL。將濃縮物再次稀釋及濃縮，重複該操作 2 次，而獲得作為黑色至暗褐色之水分散液之精製 DND-PG- $\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 。使分散液之一部分於經加熱之 PTFE 片上乾燥以進行分析。產量為 265 mg。以下示出各分析結果。

【0124】

FT-IR(使用有 KBr 之 DRIFTS,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3018, 2922, 1601, 1506(- $\text{NH}_2$ ),

1101

$^1\text{H-NMR}$ (0.1M DCl) :  $\delta$ ppm3.07, 3.30, 3.60(C3 單元)

元素分析 : C : 49.16% ; H : 6.69% ; N : 6.55% ; Cl : 13.49%

TGA ( 空氣環境 , 20°C/min , %重量損失 ) : 90-568°C : 72.1% ; 568-800°C : 26.7%

( DND-PG-PBA 之製作 )

【0125】 DND-PG-PBA 係藉由 2-甲醯基苯硼酸-<sup>10</sup>B(鄰溴苯甲醛-<sup>10</sup>B) 對 DND-PG-NH<sub>2</sub> 之還原胺化而導入。

· 硼酸三異丙酯-<sup>10</sup>B 之製作

【0126】 將硼酸-<sup>10</sup>B(1.0 g, 16.4 mmol) 添加至 2-丙醇(10 mL) 與環己烷(30 mL) 之混合物中，攪拌 30 分鐘，然後加熱回流 10 分鐘。安裝 Dean-Stark 裝置(將環己烷預先填充於接收器)，一邊利用共沸蒸餾去除水與 2-丙醇，一邊回流 6 小時直至蒸氣溫度達到 80°C 為止。去除溶劑，將殘留物(3.46g) 不進一步精製而用於下一反應。

· 2-甲醯基苯硼酸-<sup>10</sup>B 之製作

【0127】 將 2-(2-溴苯基)-1,3-二氧雜環戊烷(1.30 g, 5.7 mmol) 於氮氣環境下溶解於無水二乙醚(10 mL)，冷卻至 -78°C。緩緩加入正丁基鋰之正己烷溶液(1.6M, 3.9 mL, 6.24 mmol)，於 -78°C 攪拌 1 小時。向 -78°C 之鋰鹽之懸浮液中，添加硼酸三異丙酯-<sup>10</sup>B(粗產物 1.69 g，自硼酸-<sup>10</sup>B 8.2 mmol 製備)，於 -60°C 以下攪拌 3 小時，然後於室溫攪拌整夜。添加水(20 mL)、甲基三級丁基醚(MTBE, 20 mL) 及 2.5M (10 質量%) NaOH(5.0 mL)，進行分液。將水相用 MTBE 清洗 2 次之後，用 6M HCl(5.0 mL) 進行酸化，將析出之油狀物用 MTBE 萃取 3 次，將合併之有機相用無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。過濾出 MgSO<sub>4</sub> 之後，進行減壓濃縮。將粗產物自 MTBE 及正己烷進行再結晶化，而獲得外觀白色之結晶性粉末。產量為 0.50g (59 質量%)。以下示出各分析結果。

【0128】

FT-IR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3346, 3072, 1670, 1490, 1463, 1427, 1384( $^{10}\text{B-O}$ ), 1195, 858, 765, 748, 648

$^1\text{H-NMR}$ (甲醇- $\text{d}_4$ ) : 6.00, 7.42, 7.47, 7.59, 7.67, 7.92, 9.96(2 個互變異構物之混合物)

ESI-MS(Negative,  $m/z$ ) : Anal. 148.08818( $\text{M-H}^-$ ); Calc.  $\text{C}_7\text{H}_6\text{BO}_3$  148.0441

【0129】 進行如下一鍋反應：將 DND-PG-NH<sub>2</sub> 與 2-甲醯基苯硼酸- $^{10}\text{B}$  於甲醇中反應而形成對應之亞胺，然後用 NaBH<sub>4</sub> 進行還原。具有富集到  $^{10}\text{B}$  之硼酸基之 2-甲醯基苯硼酸- $^{10}\text{B}$  係自市售之  $^{10}\text{B}$  硼酸經由其三異丙酯而容易地合成。所得之產物(DND-PG-PBA)中之 PBA 結構之存在藉由 FT-IR 光譜中之與 1,2-二取代苯環之 BO 伸縮及面外彎曲對應的 1352 及 754  $\text{cm}^{-1}$  之吸收而確認到 (圖 9)。 $^1\text{H-NMR}$  中，觀察到 7.50 及 7.20 ppm 之源自苯環之訊號、4.05 ppm 之源自 PBA 之苜位質子之訊號 (圖 10)。

(DND-PG-PBA 之製作)

【0130】 將 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 之水分散液 (淨重 108 mg) 於減壓下蒸發乾固。使殘留物分散於甲醇中之後，添加乙醇，並進行蒸發乾固。對殘留物添加甲醇(10 mL)，並超音波處理 30 分鐘。添加 2-甲醯基苯硼酸- $^{10}\text{B}$ (50.4 mg, 0.34 mmol)、三乙基胺(145 mg, 1.43 mmol)及無水硫酸鎂 ( $\text{MgSO}_4$ , 254 mg)，於 60°C 攪拌 19 小時。將反應混合物於冰浴中冷卻至 0°C，花費 2 小時分 2 次添加硼氫化鈉( $\text{NaBH}_4$ , 119 mg, 3.20 mmol)，然後於 60°C 攪拌 6 小時。將反應混合物濃縮，去除甲醇，並添加水(10 mL)及 6M HCl(5.0 mL)。藉由以 30,000g 離心分離 20 分鐘而將沈澱物分離，然

後再次溶解於水(8 mL)中。添加 6M HCl(2.0 mL)之後，將混合物於 100°C 攪拌 2.5 小時。用超濾 (AmiconUltra, 10kDa, 3,300 rpm, 30 分鐘) 將反應混合物濃縮，將膜上之材料用水藉由稀釋進行清洗，然後進行超濾，將該操作進行 4 次。將濾膜上之濃縮物用水稀釋之後 (稀釋後 6.0g)，將 pH 調整為 7.4。然後，進一步進行利用超濾之清洗 4 次。為了製備分析樣品，將所得之分散液進行冷凍乾燥，而獲得作為灰白色粉末之 DND-PG-PBA。產量為 104 mg (淨重)。以下示出各分析結果。

**【0131】**

FT-IR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3224, 2910, 2873, 1448(B-N), 1352(B-O), 1107, 754(1,2-二取代苯)

$^1\text{H-NMR}$ (0.1M DCl) :  $\delta$ ppm 7.50, 7.20(PBA 之芳香環), 4.05, 3.41(PBA 及 C3 單元之苜位)

元素分析 : C : 60.11% ; H : 6.14% ; N : 5.51%

**【0132】** 根據元素分析之結果計算出藉由 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl (NH<sub>2</sub> 基含量 : 4.22 mmol/g) 與 2-甲醯基苯硼酸-<sup>10</sup>B (相對於 DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 1g 而為 3.15 mmol) 之反應而獲得之 DND-PG-PBA 中的 PBA 基之導入量為 2.24 mmol/g (表 1)。

## 【0133】 ◎ [表 1]

基於氮含量變化之 PBA 量

	DND-PG-NH <sub>2</sub> ·HCl	DND-PG-PBA
EA <sup>a</sup> 之碳含量(wt%)	49.10	60.11
EA 之氮含量(wt%)	6.55	5.51
源自 DND-PG-NH <sub>2</sub> ·HCl 之碳(wt%)	49.10	41.30 <sup>b</sup>
源自 PBA 部分之碳(wt%)		18.81
PBA 量(mmol/g)		2.24
PBA 量(g/g)		0.300
胺基含量(mmol/g)	4.22	3.55
未反應之胺基(mmol/g)		1.31

<sup>a</sup> 元素分析<sup>b</sup> 利用「DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 中之 C」/「DND-PG-NH<sub>2</sub>·HCl 中之 N」×「DND-PG-PBA 中之 N」計算所得。

【0134】 DND-PG-PBA 於磷酸緩衝生理鹽水(PBS)中以 50 mg/mL 顯示出分散性。認為此種高分散性源於鄰位之胺基甲基之氮原子與硼酸部分之硼原子配位而形成 5 員環之「Wulff 型 PBA」。即，認為由於取得如苯硼酸與胺基甲基滿足 Wulff 圖案之 5 員環結構，因此 pKa 變小（即，與水之親和性提高），從而分散性變高。

（DND-PG-PBA-Suc、DND-PG-PBA-SucMe 之製作）

【0135】 將胺基分別藉由琥珀醯基化與甲基化而轉換成醯胺與甲基胺基。為了讓一部分二級胺基可形成 Wulff 型配位，而有意地不進行琥珀醯基化，於之後進行甲基化。對於 1g 之 DND-PG-PBA 使用約 2 mmol 之琥珀酸酐。此外，剩餘之二級胺基藉由利用甲醛之還原胺化而甲基化。

·DND-PG-PBA-Suc 之製作

【0136】對 DND-PG-PBA 之水分散液 21g( DND-PG-PBA 之含量 180 mg, pH3.59) , 一邊使用 1M NaOH 將 pH 調整為 8.0~9.5 , 一邊花費 2 小時分數次添加琥珀酸酐(39.1 mg,0.390 mmol) 。然後 , 將反應混合物於 pH8.4 且室溫下攪拌一晚。將反應混合物之一部分 ( 24.0g 中之 6.0g ) 用水稀釋再超濾 , 藉由將該操作進行 5 次來清洗 , 從而獲得局部地琥珀醯基化之物質。產量為 45.1 mg 。反應液整體為 180 mg 。以下示出各分析結果。

【0137】

FT-IR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3275, 2916, 2874, 1654(醯胺 C=O), 1570, 1448, 1394, 1363, 1112, 754

$^1\text{H-NMR}$ (0.1M DCl) :  $\delta$ ppm7.57, 7.25(PBA 之芳香環), 4.08, 3.34 (PBA 及 C3 單元之苜位), 2.35(琥珀醯基)

元素分析 : C:57.62%、H : 6.27%、N:5.77%

·DND-PG-PBA-SucMe 之製作

【0138】將 DND-PG-PBA-Suc 之反應混合物之一部分 ( 24.0g 中之 18.0 g , 含有 135 mg 之 DND-PG-PBA-Suc ) 冰冷。添加甲醛溶液 (HCHO,36%,0.80 mL)及  $\text{NaBH}_4$ (136.3 mg,3.67 mmol)之後 , 將反應混合物於室溫攪拌一晚。一邊避免發泡一邊添加 6M HCl(3.0 mL) , 然後將混合物於 80°C攪拌 2 小時。用水稀釋並藉由超濾進行清洗之後 , 用 1M NaOH 將 pH 調整為約 7.0 。分數次添加少量之琥珀酸酐 ( 合計 7.6 mg ) , 確認到 pH 為 6.9 以上時可分散。將 pH 調整為 7.4 , 利用超濾 ( Ultracel 膜 , 30kDa 及 AmiconUltra , 10kDa ) 將所得之溶液清洗數次。產量為 135 mg 。以下示出各分析結果。

## 【0139】

FT-IR(擴散反射法,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3280, 2926, 2878, 1653, 1568, 1446, 1394, 1362, 1109, 756

$^1\text{H-NMR}$ (0.1M DCl) :  $\delta$ ppm 7.56, 7.25(PBA), 4.08, 3.34(PBA 及 C3 單元之苜位), 2.67(N-CH<sub>3</sub>), 2.33(琥珀醯基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-))

元素分析 : C:56.60%、H:6.36%、N:5.83%。含硼量(ICP-AES) : 1.85% (DND-PG-FPBA、DND-PG-FPBA-Suc、及 DND-PG-FPBA-SucMe 之製作)

【0140】 除了使用 FPBA 來代替 PBA 以外，以與 DND-PG-PBA 等之製作方法同樣之方式製作 DND-PG-FPBA、DND-PG-FPBA-Suc、及 DND-PG-FPBA-SucMe。對於生物實驗用樣品，利用超濾將溶液濃縮，視需要用水稀釋，通過 0.45  $\mu\text{m}$  之膜進行過濾。然後，追加 10xPBS(-)或 PBS(-)，製成目標濃度與等滲性。

(2-甲醯基-3-氟苯硼酸- $^{10}\text{B}$ 、「FPBA」之製作)

【0141】 將 2-溴-6-氟苯甲醛(0.93 g,4.6 mmol)溶解於甲醇(10 mL)中，添加原甲酸三甲酯(1.56 g,14.7 mmol)、對甲苯磺酸一水合物(23.7 mg,0.12 mmol)並加熱回流 2 小時。將甲醇減壓蒸餾去除，對殘渣添加甲苯及飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液，並進行分液。用飽和鹽水對有機層進行清洗之後，用無水 MgSO<sub>4</sub> 進行乾燥。過濾去除乾燥劑，將濾液減壓濃縮。所得之無色液體(1.18g)不進一步精製而用於下一操作。將前述 2-溴-6-氟苯甲醛二甲基縮醛(1.18g)於氮氣環境下溶解於無水二乙醚(10 mL)中，並冷卻至-78°C。緩緩加入正丁基鋰之正己烷溶液(1.6M,3.75 mL,6.24 mmol)，於-78°C攪拌 1

小時。向-78°C之鋰鹽之懸浮液中添加硼酸三異丙酯-<sup>10</sup>B（粗產物 1.69 g，自硼酸-<sup>10</sup>B 8.2 mmol 製備），於-60°C以下攪拌 1 小時，然後於室溫攪拌 4 小時。添加水(20 mL)、甲基三級丁基醚(MTBE, 20 mL)及 2.5M（10 質量%）NaOH(5.0 mL)，進行分液。將水相用 MTBE 清洗 2 次之後，用 6M HCl(5.0 mL)進行酸化，將析出之油狀物用 MTBE 萃取 3 次，將合併之有機相用無水 MgSO<sub>4</sub> 乾燥。過濾出 MgSO<sub>4</sub> 之後，進行減壓濃縮。對殘渣(0.73g)添加 THF(5 mL)、水(5 mL)、對甲苯磺酸一水合物(45.2 mg, 0.24 mmol)，於室溫攪拌整夜。將 THF 減壓蒸餾去除，對殘渣添加 MTBE 並進行分液。將有機層用飽和鹽水清洗 2 次，用無水 MgSO<sub>4</sub> 進行乾燥。過濾出 MgSO<sub>4</sub> 之後，進行減壓濃縮。將粗產物自 MTBE 及正己烷進行再結晶化，而獲得外觀白色之結晶性粉末。產量為 0.29g(38%)。以下示出各分析結果。

【0142】

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) : 6.96(2H, B-(OH)<sub>2</sub>), 7.70(1H), 7.99(1H), 7.28(1H), 10.46(1H, CHO)

ESI-MS(Negative, m/z) : Anal. 166.07884(M-H<sup>-</sup>); Calc. C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>BFO<sub>3</sub> 167.04

【0143】 將自 DND 至 DND-PG-PBA-SucMe 之反應方案示於圖 22 及圖 23。

【0144】 DND-PG-PBA-Suc 之 FT-IR（圖 11）中，醯胺及羧酸酯(-COO-)之 C=O 伸縮振動之波峰分別於 1653 及 1568 cm<sup>-1</sup> 觀察到。<sup>1</sup>H-NMR 光譜（圖 12）中，2.34 ppm 之信號歸屬於琥珀醯基部分(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)之氫。圖 13 及圖 14 係甲基化後之 DND-PG-PBA-SucMe 之 FT-IR 及 <sup>1</sup>H-NMR。

關於 DND-PG-PBA-SucMe，於  $^1\text{H-NMR}$  之與甲基對應之 2.67 ppm 出現新信號。琥珀醯基及甲基之擔載量根據  $^1\text{H-NMR}$  之積分值推定。DND-PG-PBA-Suc 之琥珀醯基為 1.20 mmol/g，DND-PG-PBA-SucMe 之琥珀醯基及甲基分別為 1.17 mmol/g 及 1.20 mmol/g。利用 ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy，電感耦合電漿體原子發射光譜) 所得之 DND-PG-PBA-SucMe 之含硼量為 1.85 質量%。另外，由 PBA 基之含量決定之硼含量為 2.06 質量%。表 2 中匯總各物質中之各官能基之量。

【0145】 ◎ [表 2]

DND-PG 衍生物中之官能基含量

	官能基含量(mmol/g)						硼含量 <sup>a</sup> (%)
	OTs	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	PBA	琥珀醯基	甲基	
DND-PG-OTs	3.28						
DND-PG-N <sub>3</sub>		4.45					
DND-PG-NH <sub>2</sub> ·HCl			4.22				
DND-PG-PBA			1.31	2.24			2.42
DND-PG-PBA-Suc				1.97	1.20		2.13
DND-PG-PBA-SucMe				1.91	1.17	1.20	2.06 (1.85 <sup>b</sup> )

<sup>a</sup> 由 PBA 部分之莫耳比計算之值。

<sup>b</sup> ICP-AES 之結果。

[細胞毒性評估]

【0146】 評估 DND-PG-PBA-Suc、DND-PG-PBA-SucMe、及 DND-PG-FPBA-SucMe 之細胞毒性 (圖 15)。腫瘤模型使用 CT26 小鼠結腸腫

瘤細胞。任一表面改質 DND 粒子均於相對較高濃度(500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )未顯示出毒性。另外，具體操作如下所述。

【0147】使 CT26 小鼠結腸腫瘤細胞懸浮於 RPMI 1640 培養基（含有 10 體積%FBS（胎牛血清）及 1 體積%之 100x 青黴素-鏈黴素-兩性黴素 B 溶液）中，將所得者以各孔  $4 \times 10^3$  個細胞(160  $\mu\text{L}$ )播種於 96 孔微孔盤。於  $\text{CO}_2$  培養箱內，以  $37^\circ\text{C}$  培養 24 小時之後，將培養基更換 1 次，向其中添加奈米粒子之 PBS 或 PBS 溶液（4、20、100、500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，分別為 40  $\mu\text{L}$ ）。培養 24 小時之後，更換培養基，進一步培養 48 小時。用 PBS 清洗細胞之後，添加於培養液中之 CCK-8（2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺基苯基)-2H-四氮唑單鈉鹽(WST-8)與 1-甲氧基-5-甲基吩嗪硫酸甲酯鹽(1-Methoxy PMS)之混合溶液，同人化學股份有限公司，向各孔添加 10  $\mu\text{L}$  之 CCK-8 及 100  $\mu\text{L}$  之培養基)。1.5 小時後，使用微孔盤讀取儀測定各孔之 450 nm 下之吸光度。

#### [藥物動力評估]

【0148】進行藥物動力評估以決定中子照射前之藥物注射之時機。於樣品注射時未觀察到小鼠之急性症狀。將藥物動力之結果示於圖 16。具體操作如下所述。

【0149】飼養 BALB/c 小鼠（雌，6 週大）。於樣品注射 1 週前，將 CT26 腫瘤細胞移植於 BALB/c 小鼠（雌，6 週大）之右大腿部之皮下（對各小鼠為  $1 \times 10^6$  個細胞）。對小鼠靜脈內注射於 PBS 中之 DND-PG-PBA-SucMe- $^{10}\text{B}$  溶液（4.0 質量%，對各小鼠為 200  $\mu\text{L}$ ）。0.5、3、6、14、24、及 48 小時後，讓小鼠死亡，提取腫瘤、血液、肝臟、脾臟及腎臟，放入各

PTFE 管。各試樣中之  $^{10}\text{B}$  濃度係藉由使用京都大學研究爐(KUR)所配備之裝置進行中子誘發瞬發伽馬射線分析(PGA)而測定。

【0150】 肝臟與脾臟之  $^{10}\text{B}$  濃度自注射後 3 小時至 48 小時，高於血液、腫瘤、腎臟之濃度，顯示出有 DND-PG-PBA-SucMe 積累於該等臟器之傾向。若將肝臟與脾臟之平均重量分別設為 0.96g 與 0.08 g，則計算出注入之表面改質 DND 粒子之一半以上積累於該等臟器。已報告有 PG 會避開向肝臟與脾臟之積累（隱身效應），但 PBA 及/或 SucMe 部分有使效率降低之可能性。另一方面，腎臟之  $^{10}\text{B}$  濃度低，且利用 DLS 所得之流體力學直徑大於 20 nm，因此表示 DND-PG-PBA-SucMe 未自腎臟排泄(圖 18)。

【0151】 為了決定 BNCT 條件，將腫瘤與血液中之  $^{10}\text{B}$  濃度及它們之比率（T/B 比）示於圖 17。除了以高 BNCT 效果為目標而使藥劑以高濃度向腫瘤積累以外，亦需要考慮為了避免副作用之安全性。除前述 *in vitro* 實驗（體外實驗）所評估之表面改質 ND 之毒性以外，T/B 比亦為重要指標。腫瘤之  $^{10}\text{B}$  濃度於 14 小時與 48 小時分別為 17.1 與 14.3 ppm，高於其他時間點。血中之  $^{10}\text{B}$  濃度之半衰期約 3 小時，自 3 小時之 32.8 ppm 開始減少，T/B 比亦於 14 小時與 48 小時高於其他時間點，分別為 11.1 與 6.7。出於 BNCT 之安全性考慮之 T/B 比超過 3，因此設為於 DND-PG-PBA-SucMe 注入後約 14 小時與 48 小時照射中子。

[BNCT 試驗]

【0152】 利用與藥物動力實驗相同之方法，對 BALB/c 小鼠注射 DND-PG-PBA-SucMe 之 PBS 分散液，於 16 小時後與 48 小時後照射中子。具體操作如下所述。

【0153】飼養 BALB/c 小鼠（雌，6 週大）。於中子照射之 1 週前，將 CT26 腫瘤細胞移植於 BALB/c 小鼠之右大腿部之皮下（對各小鼠為  $1 \times 10^6$  個細胞）。於中子照射之 16 小時前與 48 小時前對小鼠靜脈內注射於 PBS 中之 DND-PG-PBA-SucMe- $^{10}\text{B}$  樣品溶液（4.0 質量%，對各小鼠為 200  $\mu\text{L}$ ）（各組為 5 只小鼠）。亦準備注射控制組（有樣品注入及無照射）、熱控制組（有照射及無樣品注入）及冷控制組（無處理）之小鼠。中子照射時，對小鼠進行麻醉，以僅腫瘤之部分可曝露於中子之方式在有腫瘤之大腿部與下肢伸長之狀態下分別保持於丙烯酸管支架上。將管支架呈放射狀固定於丙烯酸板（1 片板上 12 只小鼠），將腫瘤之部分配置於中央。小鼠之其他部分由屏蔽板覆蓋以防中子曝露。對腫瘤照射中子 10 分鐘。中子之通量為  $3.99 \times 10^{12}$  或  $3.55 \times 10^{12}$  中子/ $\text{cm}^2$  之任一者（小鼠分成 2 個照射批次）。將照射後之小鼠於輻射管理區域飼養指定時間。定期監視腫瘤之大小與體重之變化。關於腫瘤之大小，利用遊標卡尺測定橢圓形腫瘤之 2 個軸之尺寸。腫瘤體積以「體積 = (長軸  $\times$  短軸<sup>2</sup>) / 2」進行計算，此處，長軸為（自外部以橢圓形觀察到之）腫瘤之較長側之尺寸，短軸為較短側之尺寸。

【0154】將中子照射後 29 天期間監視腫瘤之大小與體重所得之結果示於圖 19 至圖 21。表面改質 ND 本身不會對腫瘤之成長產生影響（圖 20 之注射控制）。即便於未注入表面改質 ND 時，藉由進行中子照射，亦顯示出某種程度之腫瘤成長抑制（圖 20 之熱控制）。與熱控制組相比較，利用 DND-PG-PBA-SucMe 之 BNCT 組於中子照射後第 17、21 及 26 天顯示出統計學上有意義之 BNCT 效果（圖 19 之 BNCT 48h）。關於體重，熱控制組與 BNCT 組之間未觀察到顯著差異，表示無表面改質 ND 之急性或亞

急性毒性（圖 21）。另外，亦確認到使用少數小鼠（ $n=2、3$ ）之實驗之再現性，結論為 DND-PG-PBA-SucMe 為 BNCT 之有希望之表面改質 ND。

【0155】另外，DND-PG-PBA 於 FBS（胎牛血清）之 PBS 混合物中觀察到少量凝聚，但對於 DND-PG-PBA-Suc 及 DND-PG-PBA-SucMe 未觀察到凝聚。凝聚之具體判定方法如下所述。

【0156】於將 0.5 質量份之前述表面改質奈米鑽石調配於 99.5 質量份之 PBS(pH7.4)/FBS(45/55(v/v))溶液中並於 25°C 保存時，以目視判定於 10 分鐘以內是否實質上產生凝聚體。另外，使用之 FBS（胎牛血清）為法國 Biosera Inc. 製，PBS 為 D-PBS(-)（富士膠片和光純藥公司製造）。

【0157】另外，各樣品之  $^1\text{H-NMR}$  分析係使用 ECX500 NMR spectrometer(JEOL)來進行。另外，FT-IR 分析係使用傅立葉轉換紅外分光光度計「IRTracer」（島津製作所股份有限公司製造）上安裝有加熱真空攪拌反射「Heat Chamber Type-1000°C」（ST Japan 股份有限公司製造）之裝置來進行。

【0158】綜上，將本發明之構成及其變化附記於以下。

【0159】

[1]

一種表面改質奈米粒子，其具備：奈米碳材料；及  
前述奈米碳材料之表面改質基；且  
具有含硼原子之基作為前述表面改質基。

[2]

如[1]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述奈米碳材料為選自由奈米鑽石、富勒烯、氧化石墨烯、奈米石墨、奈米碳管、奈米碳絲、洋蔥狀碳、類鑽石、非晶形碳、碳黑、碳奈米角、及碳奈米線圈所組成之群中之至少一種。

[3]

如[1]或[2]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述奈米碳材料為奈米鑽石粒子。

[4]

如[1]至[3]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其具有親水性基及含硼原子之基作為前述表面改質基。

[5]

如[1]至[4]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述親水性基為羥基、羧基、磺基、胺基、及含親水性聚合物鏈之基。

[6]

如[1]至[5]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其具有含硼原子及親水性聚合物鏈之基作為前述表面改質基。

[7]

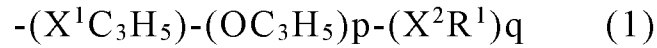
如[5]或[6]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述親水性聚合物鏈包含聚醚鏈及/或聚甘油鏈。

[8]

如[5]至[7]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述親水性聚合物鏈包含聚甘油鏈。

[9]

如[7]或[8]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述聚甘油鏈為下述式(1)所示之聚甘油鏈。



[式(1)中，p 表示 1 以上之整數，q 表示滿足  $q = p + 2$  之整數。X<sup>1</sup> 表示二價基，自[X<sup>1</sup>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]中之 X<sup>1</sup> 向左伸出之鍵結鍵結於奈米碳材料。[X<sup>2</sup>R<sup>1</sup>] 表示聚甘油鏈之末端，X<sup>2</sup> 表示單鍵或二價基，R<sup>1</sup> 表示氫原子或一價有機基]

[10]

如[9]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述[X<sup>2</sup>R<sup>1</sup>]相同或不同地為 OH、NH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>、烷氧基、醯基、單或二烷基胺基、單或二烯基胺基、烷基醯胺基、烯基醯胺基、經四級銨取代之烷氧基、經氯取代之烷氧基、聚環氧烷基、環狀醯亞胺基、經羧基取代之烷基胺基、經羧基取代之烷氧基、或含硼原子之基。

[11]

如[7]至[10]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述聚甘油鏈為羥基之一部分或全部被取代為胺基之聚甘油鏈。

[12]

如[11]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述胺基之至少一部分由具有酸性官能基之化合物保護。

[13]

如[5]至[12]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子經由芳香環而與前述親水性聚合物鏈鍵結。

[14]

如[13]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子直接鍵結於前述芳香環。

[15]

如[13]或[14]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結。

[16]

如[15]所記載之表面改質奈米粒子，其中經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結之態樣由式(2)所示之基表示[式中，Ar 表示芳香環，R<sup>3</sup> 為前述芳香環可具有之取代基（例如氟原子、氯原子、溴原子、碘原子等鹵素原子；羥基；巰基；羧基；胺基；側氧基等），例如較佳為拉電子基。m 為 0 以上之整數。R<sup>4</sup> 為含硼原子之基，且前述硼原子直接鍵結於構成前述芳香環之碳原子。n 為 1 以上之整數。R<sup>5</sup> 表示伸烷基，且為與前述伸烷基氧基及前述伸烷基胺基中之伸烷基相同之基。Y 為氧原子、NH、或 NR<sup>6</sup>。R<sup>6</sup> 為一價有機基。自 Y 向左伸出之鍵結鍵與親水性聚合物鏈（較佳為聚甘油鏈）鍵結]。

[17]

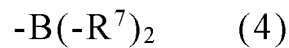
如[16]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子與前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基分別鍵結於構成前述芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子。

[18]

如[17]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子與前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基分別鍵結於構成前述芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子之態樣由式(3)所示之基表示[式中， $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 及 Y 與式(2)中所說明者相同]。

[19]

如[16]至[18]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中 R4 中之前述含硼原子之基為下述式(4)所示之基。



[式(4)中， $R^7$ 分別相同或不同地表示氫原子、羥基、胺基、磺基、或一價有機基。另外，2個  $R^7$ 亦可相互鍵結而形成環（含烴環）。2個  $R^7$ 相互鍵結而形成環時，前述環亦可經由氧原子而形成環。另外，構成前述環之碳亦可與相鄰之碳原子形成雙鍵。另外，構成前述環之碳數並無特別限定，例如較佳為 4~12，更佳為 4~10，進一步較佳為 4~6。

[20]

如[13]至[19]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鍵結，前述伸烷基胺基中之胺基為三級胺基。

[21]

如[13]至[20]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環為芳香族烴環或芳香族雜環。

[22]

如[21]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環中之前述烴環為苯環、萘環等 C<sub>6-14</sub> 烴環（尤其是 C<sub>6-10</sub> 烴環），前述芳香族雜環為構成環之原子中具有碳原子與至少一種雜原子（例如氧原子、硫原子、氮原子等）之環、該等之稠環。

[23]

如[13]至[22]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環為苯環或吡啶環。

[24]

如[13]至[23]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環具有拉電子基作為取代基。

[25]

如[24]所記載之表面改質奈米粒子，其中前述拉電子基為氟原子。

[26]

如[1]至[25]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子以硼酸之形式含有。

[27]

如[1]至[26]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子富集到 <sup>10</sup>B。

[28]

如[1]至[27]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中於將 0.5 質量份之表面改質奈米粒子調配於 99.5 質量份之 PBS(pH7.4)/FBS(45/55(v/v)) 溶液中並於 25°C 保存時，以目視判定於 10 分鐘以內實質上未產生凝聚體。

[29]

如[1]至[28]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子之含量為 0.1 質量%以上、0.5 質量%以上、1.0 質量%以上、或 1.5 質量%以上。

[30]

如[1]至[29]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其中 ND 相對於表面改質基之質量比[ND/本發明之表面改質基]為 0.2~1.5、0.2~1.0。

[31]

如[1]至[30]中任一項所記載之表面改質奈米粒子，其體積平均粒徑(MV)為 200 nm 以下、100 nm 以下、或 60 nm 以下。

[32]

一種組成物，其用於硼中子捕獲療法且含有如[1]至[31]中任一項所記載之表面改質奈米粒子。

產業上之可利用性

【0160】本發明之表面改質奈米粒子可容易地製造，且可將硼原子選擇性地送入癌細胞內，同時維持癌細胞內之硼原子之濃度。因此，本發明之表面改質奈米粒子可使足夠量之硼原子積累於癌組織、癌細胞，因此可利用硼中子捕獲療法(BNCT)有效殺傷癌組織、癌細胞。

#### 【符號說明】

無。

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種表面改質奈米粒子，其具備：奈米碳材料；及  
前述奈米碳材料之表面改質基；且  
具有含硼原子之基作為前述表面改質基。

【請求項2】 如請求項 1 所述之表面改質奈米粒子，其中前述奈米碳材料為奈米鑽石粒子。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其具有親水性基及含硼原子之基作為前述表面改質基。

【請求項4】 如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其中前述親水性基為含親水性聚合物鏈之基。

【請求項5】 如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其具有含硼原子及親水性聚合物鏈之基作為前述表面改質基。

【請求項6】 如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其中前述親水性聚合物鏈為聚甘油鏈。

【請求項7】 如請求項 6 所述之表面改質奈米粒子，其中前述聚甘油鏈為羥基之一部分或全部被取代為胺基之聚甘油鏈。

【請求項8】 如請求項 7 所述之表面改質奈米粒子，其中前述胺基之至少一部分由具有酸性官能基之化合物保護。

【請求項9】 如請求項 5 所述之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子經由芳香環而與前述親水性聚合物鏈鍵結。

【請求項10】 如請求項 9 所述之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子直接鍵結於前述芳香環。

【請求項11】如請求項 9 所述之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基氧基或伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結。

【請求項12】如請求項 11 所述之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子與前述伸烷基氧基或前述伸烷基胺基分別鍵結於構成前述芳香環之碳原子中彼此鄰接之碳原子。

【請求項13】如請求項 12 所述之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環經由構成前述芳香環之碳原子上所鍵結之伸烷基胺基而與前述親水性聚合物鏈鍵結，前述伸烷基胺基中之胺基為三級胺基。

【請求項14】如請求項 9 所述之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環為苯環或吡啶環。

【請求項15】如請求項 9 所述之表面改質奈米粒子，其中前述芳香環具有拉電子基作為取代基。

【請求項16】如請求項 15 所述之表面改質奈米粒子，其中前述拉電子基為氟原子。

【請求項17】如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子以硼酸之形式含有。

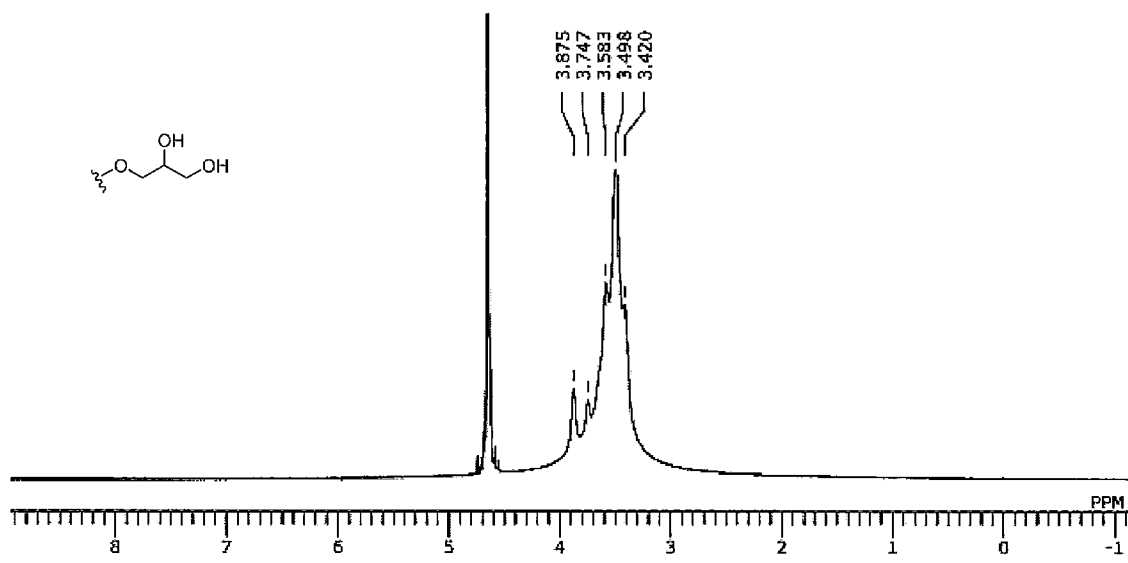
【請求項18】如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其中前述硼原子富集到  $^{10}\text{B}$ 。

【請求項19】如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子，其中於將 0.5 質量份之前述表面改質奈米粒子調配於 99.5 質量份之 PBS(pH7.4)/FBS

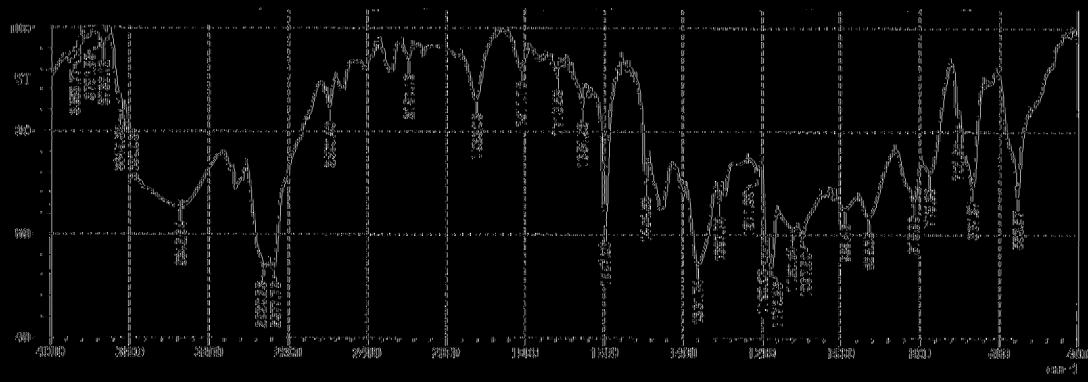
(45/55(v/v))溶液中並於 25°C保存時，以目視判定於 10 分鐘以內實質上未產生凝聚體。

【請求項20】 一種組成物，其用於硼中子捕獲療法且含有如請求項 1 或 2 所述之表面改質奈米粒子。





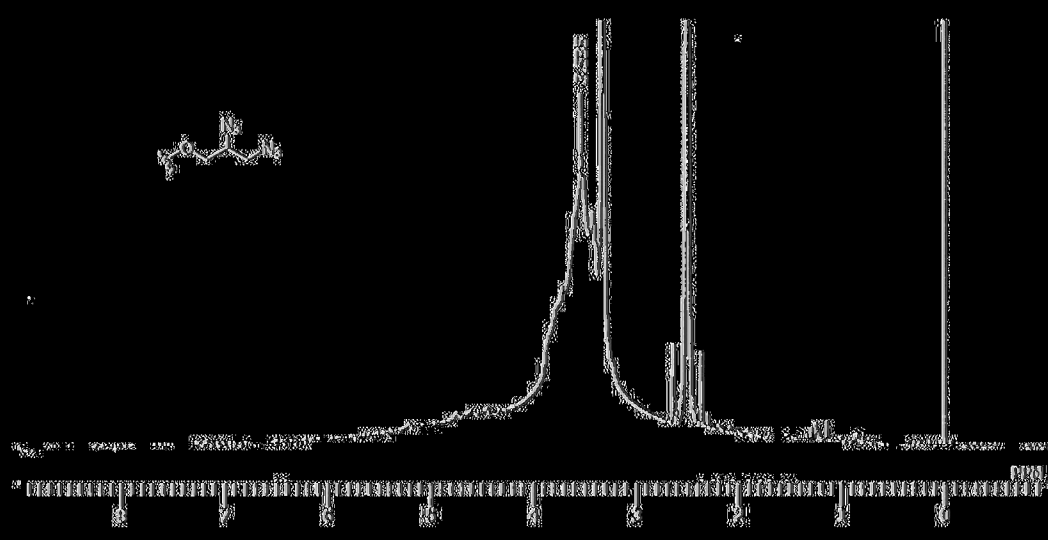
【圖2】



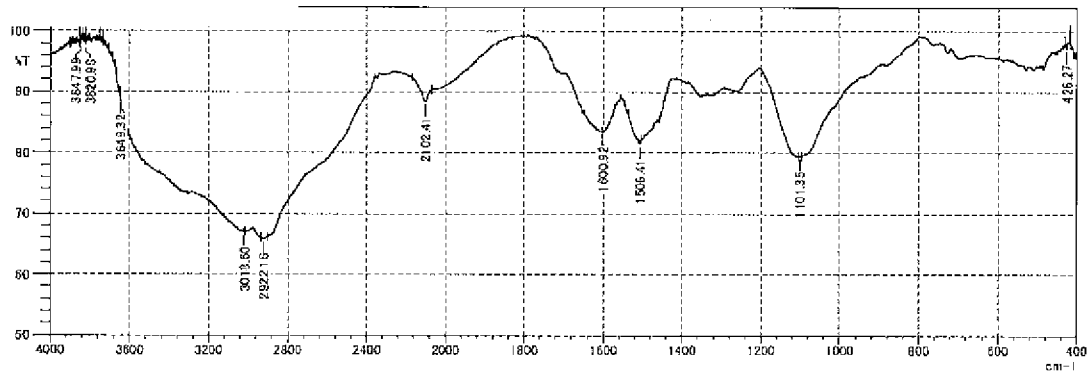
(B3)



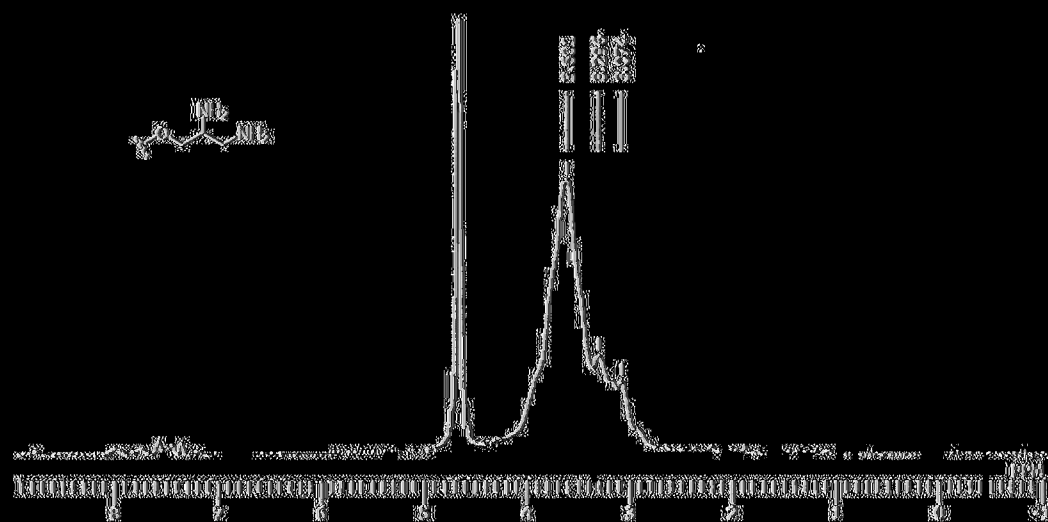




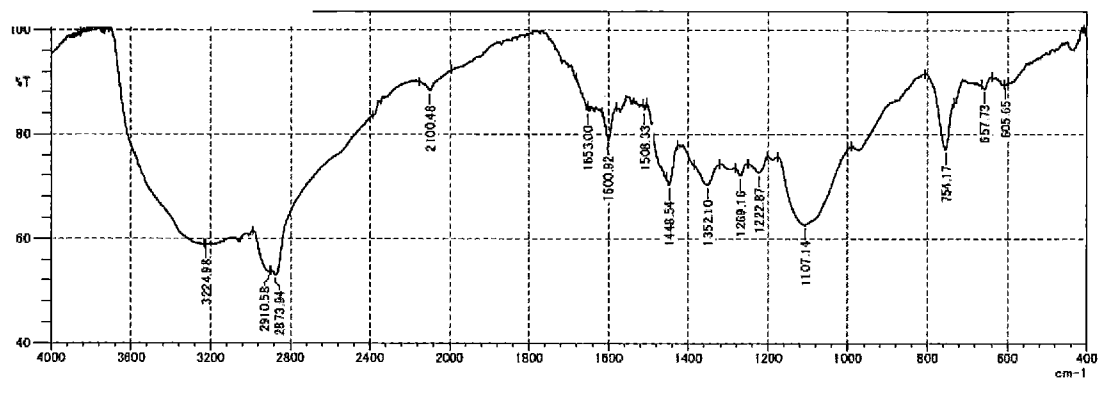
(Fig. 6)



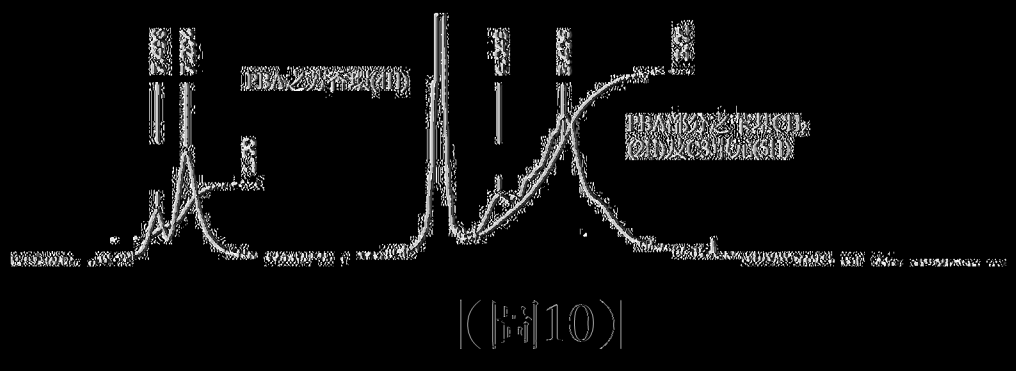
【圖7】

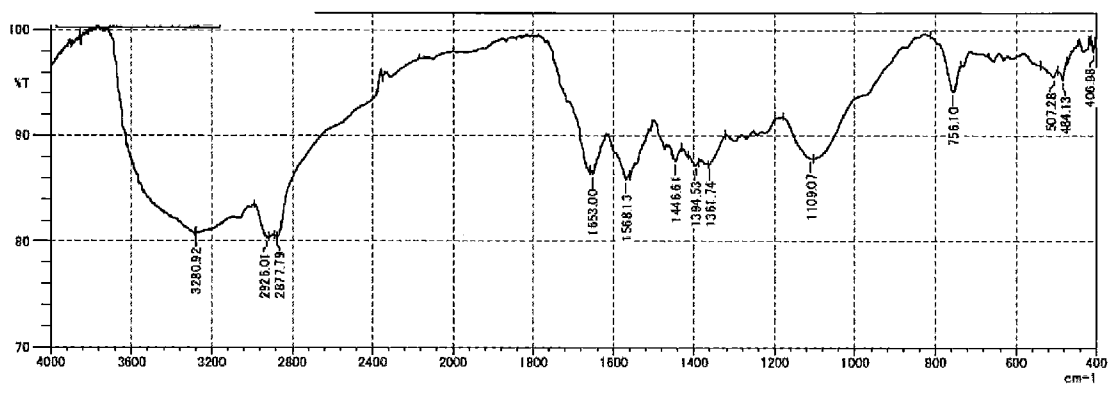


(圖8)

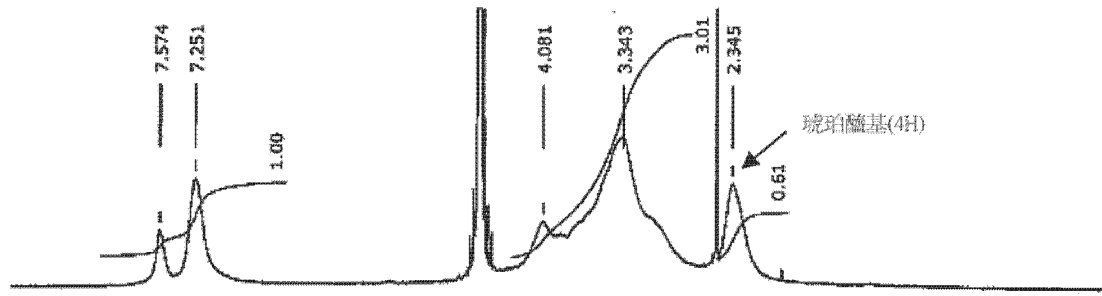


【圖9】

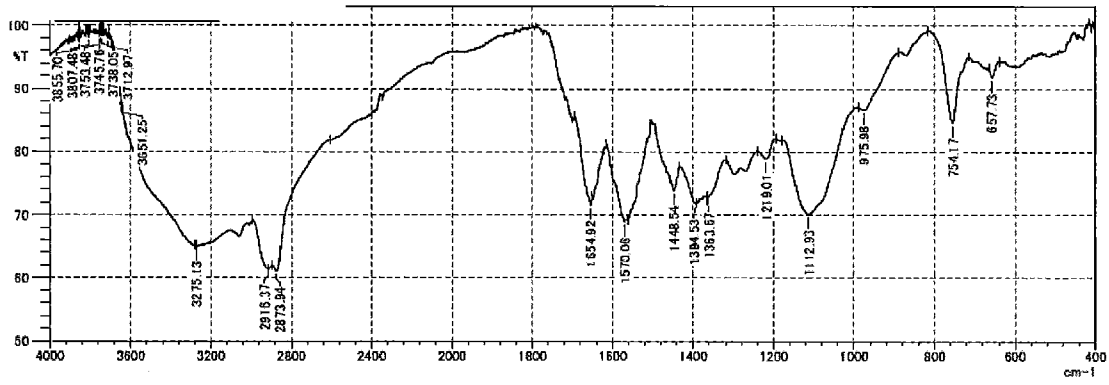




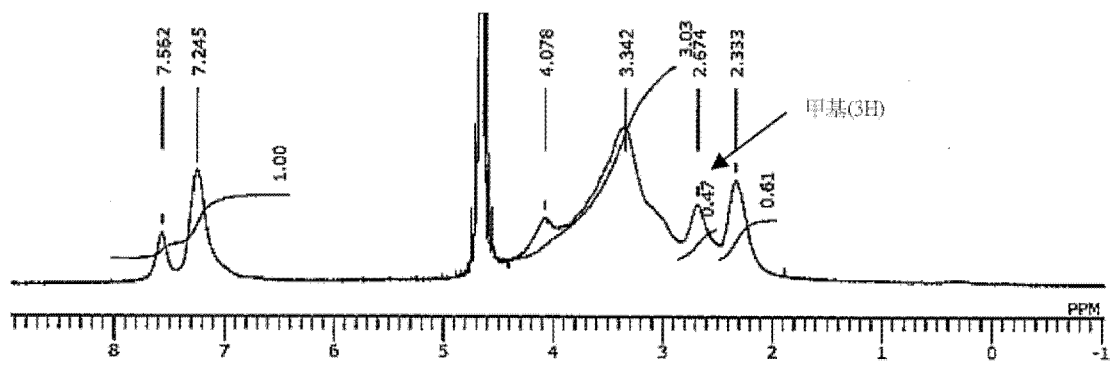
【圖11】



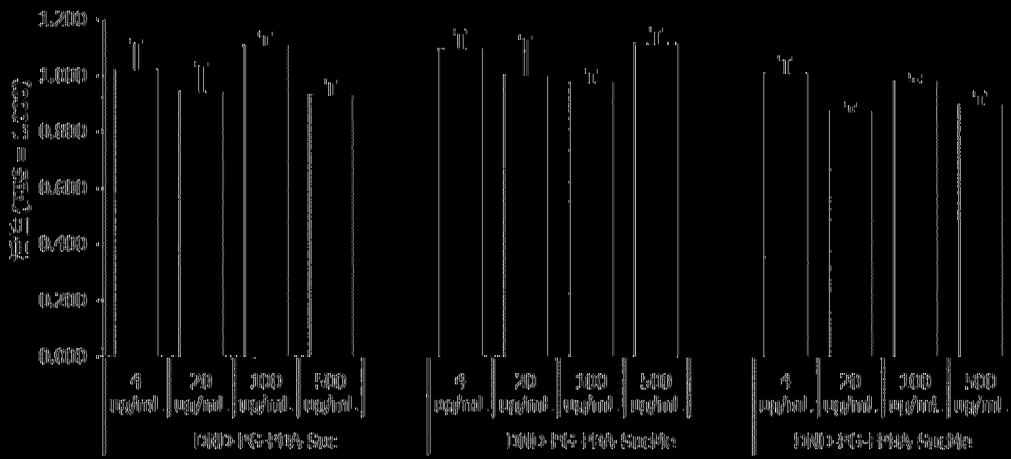
【圖12】



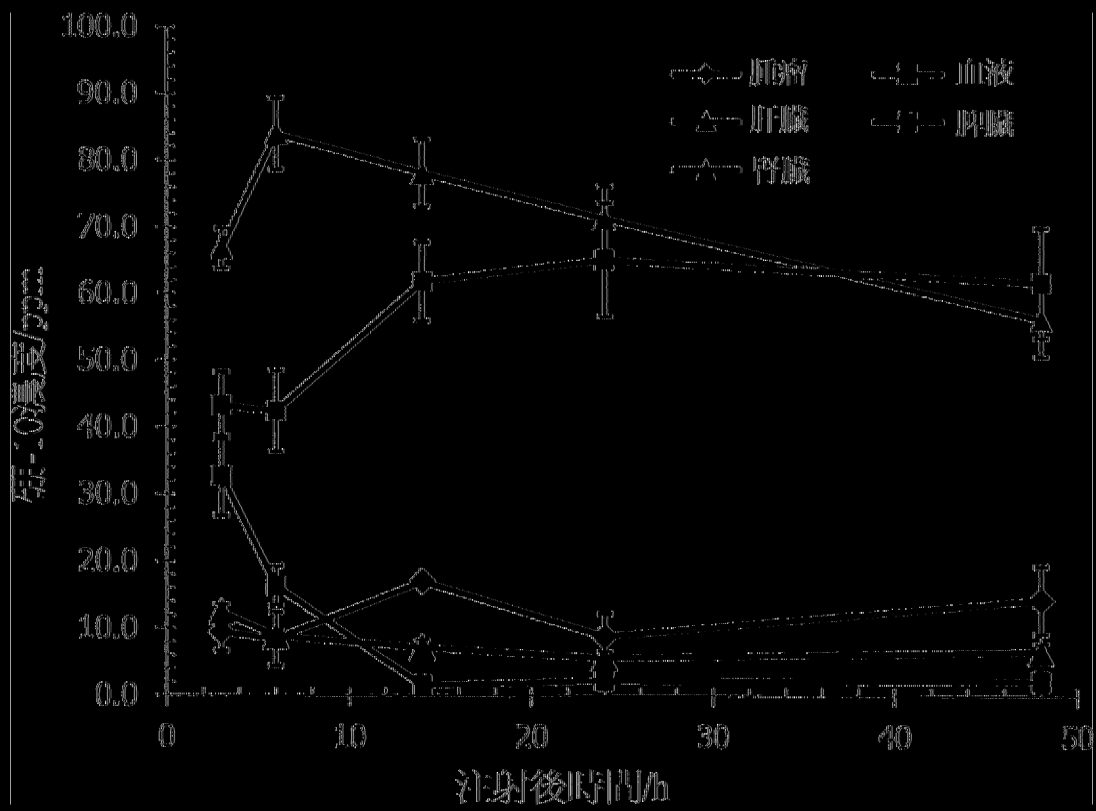
【圖13】



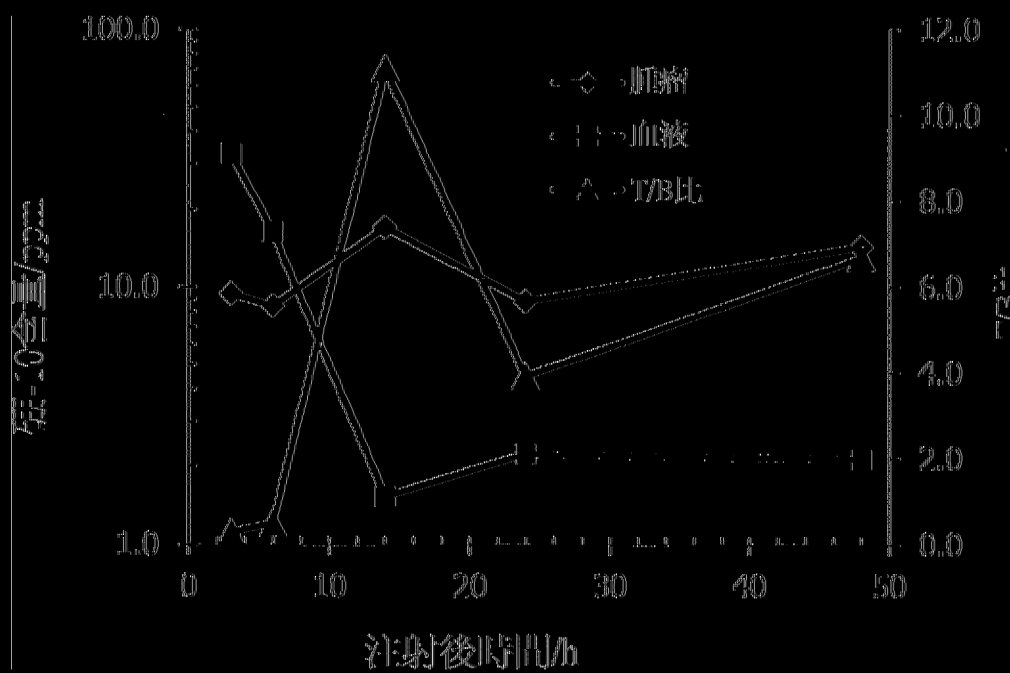
【圖14】



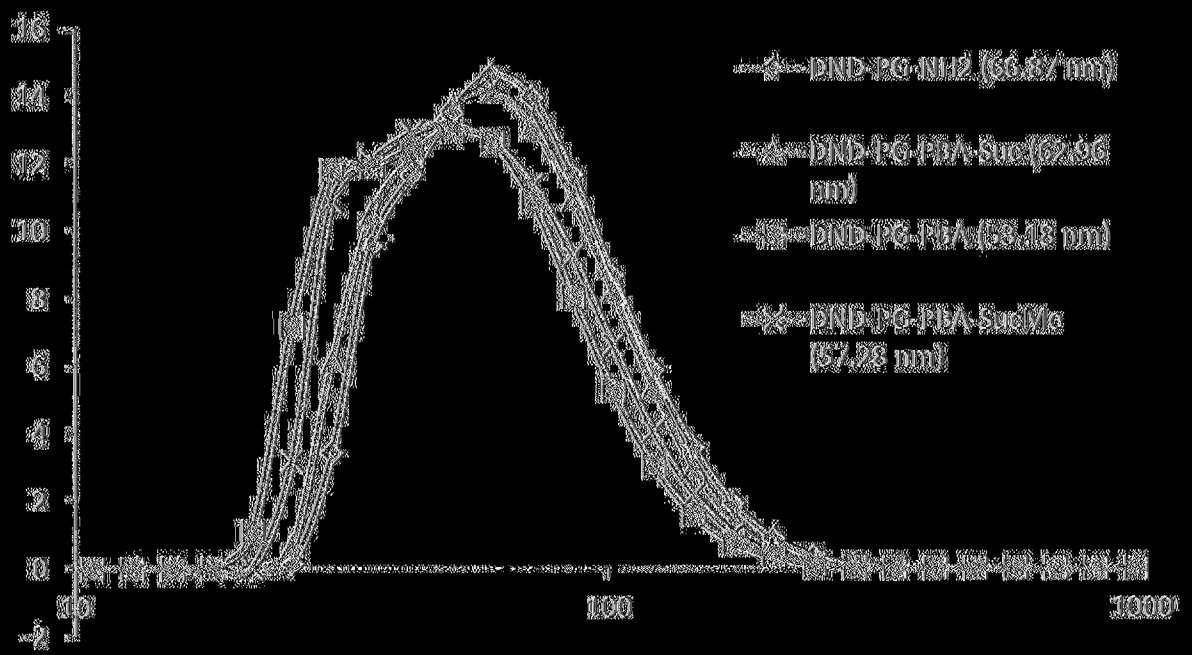
(15)



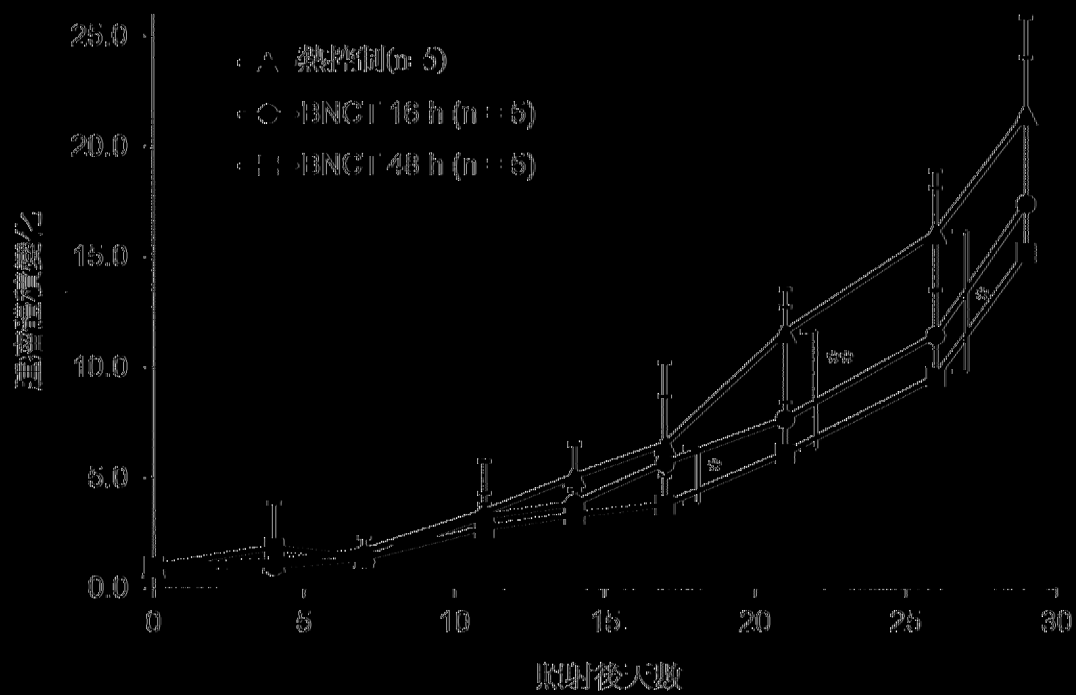
|(圖16)|



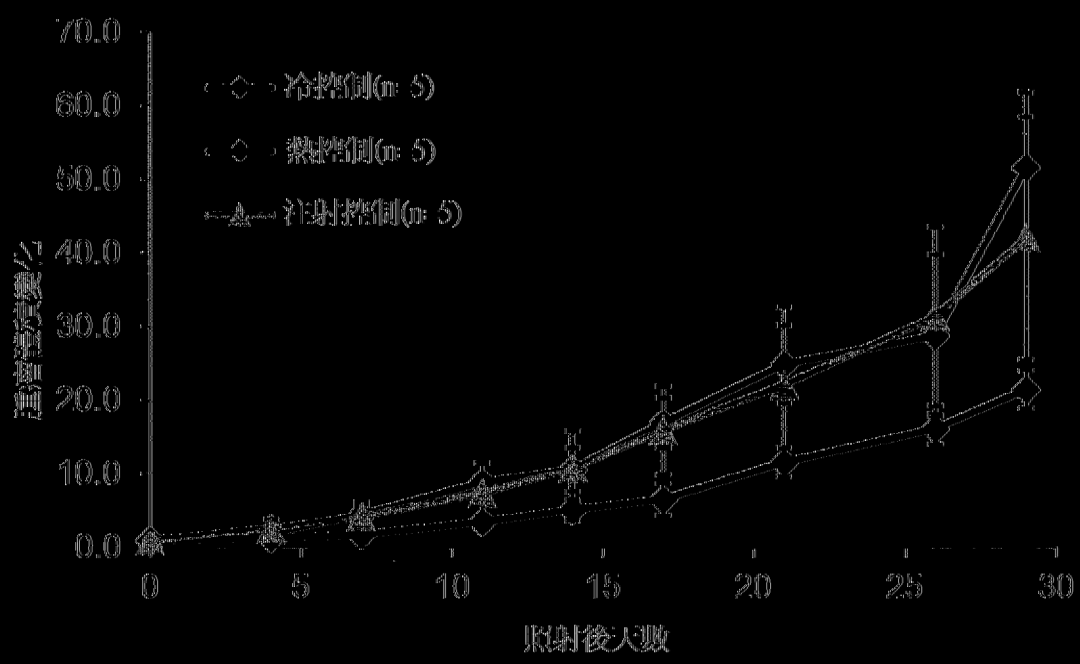
(16/17)



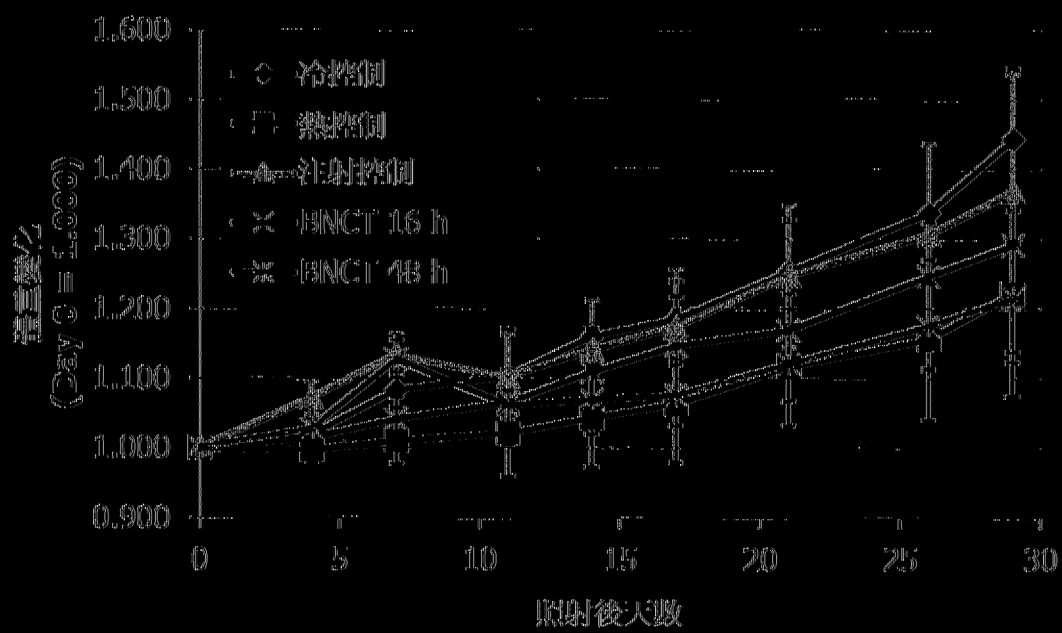
(圖 18)



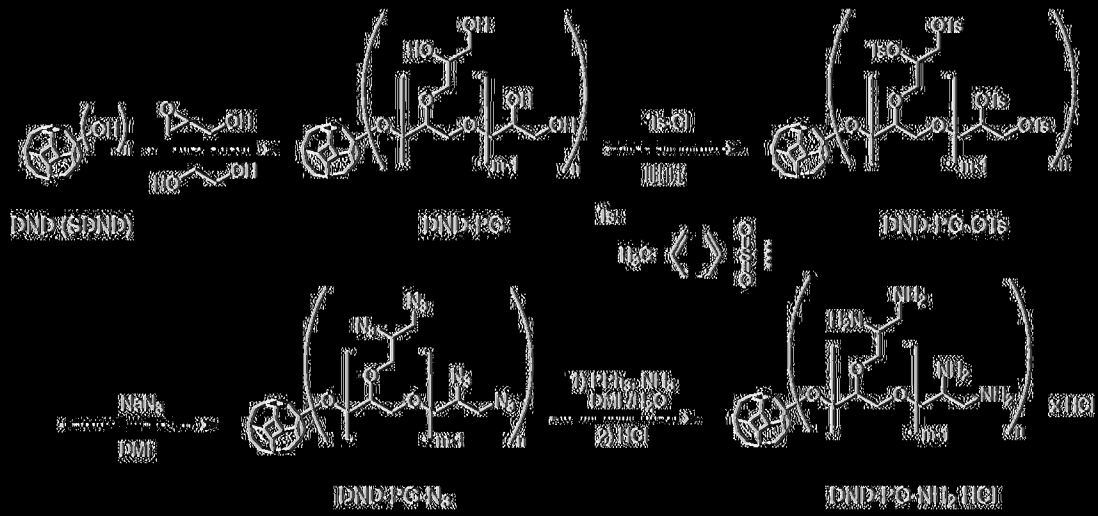
(圖19)



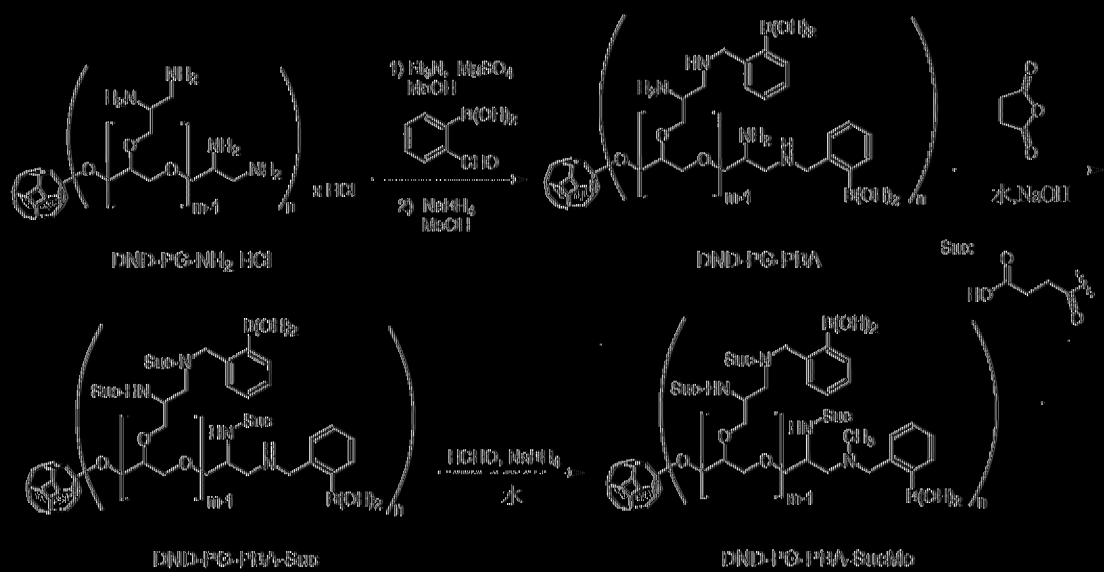
(圖20)



(圖21)



( | 22 )



(123)