



(21)申請案號：099100286

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 07 日

(51)Int. Cl. : A61K9/127 (2006.01)

A61K49/18 (2006.01)

(71)申請人：國立清華大學(中華民國) NATIONAL TSING HUA UNIVERSITY (TW)

新竹市光復路2段101號

(72)發明人：何佳安 HO, JA AN (TW)；林業鈞 LIN, YEH CHUN (TW)

(74)代理人：王正利

(56)參考文獻：

US 6596305B1

廖崇佑, "以多重乳化製程製作高分子薄殼載具之研究", I 國立清華大學國立清華大學, 2008年7月.

審查人員：江盈盈

申請專利範圍項數：16項 圖式數：11 共0頁

(54)名稱

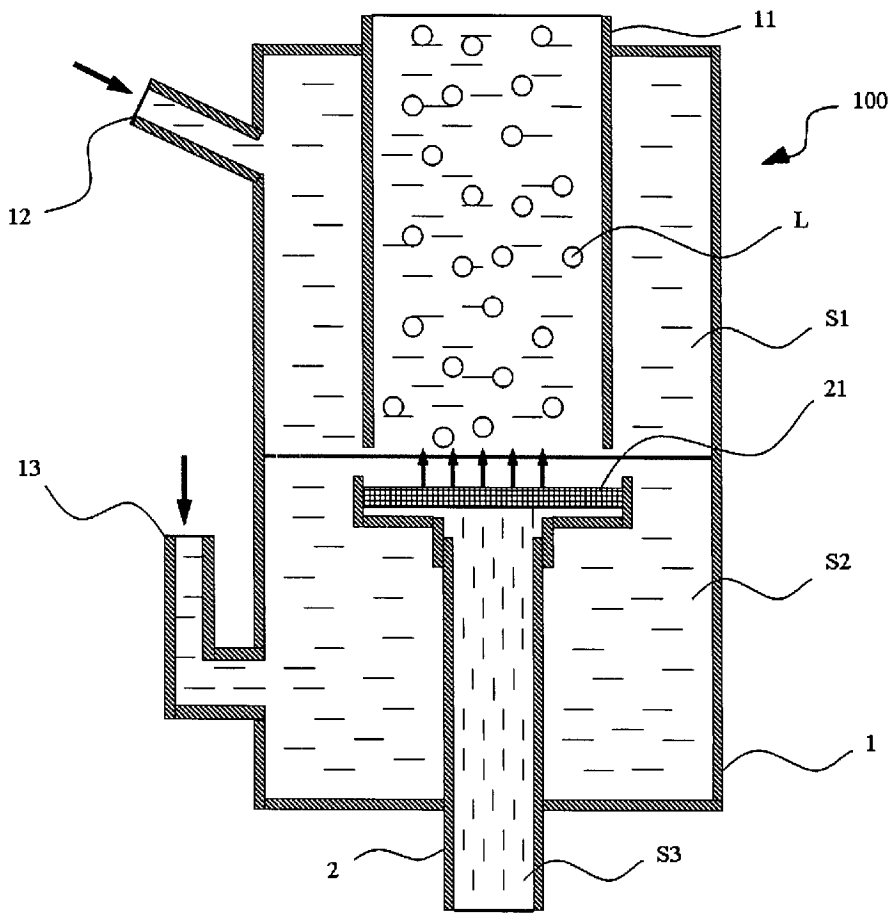
雙重乳化法製備微脂體之新型裝置

DEVELOPMENT OF A NEW DEVICE FOR THE PREPARATION OF LIPOSOMES USING DOUBLE EMULSION TEMPLATE

(57)摘要

本發明係為一種微脂體製備裝置，包括一反應管及一包覆物水相溶液輸入單元。反應管具有一收集管、一第一輸入口及一第二輸入口。包覆物水相溶液輸入單元具有一過濾器。製備微脂體時，係將一外層水相溶液及一中層有機相溶液輸入反應管後，控制使其接觸並交界於過濾器與收集管之間，在包覆物水相溶液輸入後，先經過過濾器過濾，而後依序通過該中層有機相溶液及外層水相溶液，形成複數個微脂體後進入收集管中予以收集。其具有簡便操作、可自動化量產之優點，不需透過音波震盪或精密之微流道系統，即可合成奈米尺寸並具高包覆效率之微脂體。

A simple-used and programmable injection device was developed, using syringe filter (glass sieve) and glass device, to manufacture liposomes with high encapsulation efficiency based on double emulsion template. First of all, aqueous solutions and lipids in chloroform were injected into the glass device by infusion pumps respectively to form water-in-oil-in-water double emulsions. It was followed by the removal of chloroform by rotary evaporator for converting double emulsions to liposomes. At the end of the process, non-encapsulated fluorescent dye molecules were separated from liposomes by dialysis. The encapsulation efficiencies of liposomes are around 26%, and the expected size of liposomes could be achieved by syringe filter membranes with designated pore size. This device is workable without sonicator or delicate microfluidic system, and is suitable for manufacture of liposomes as carriers of signal molecules or drugs with high encapsulation efficiency.



- 100 . . . 微脂體製備裝置
- 1 . . . 反應管
- 11 . . . 收集管
- 12 . . . 第一輸入口
- 13 . . . 第二輸入口
- 2 . . . 包覆物水相溶液輸入單元
- 21 . . . 過濾器
- L . . . 水包油包水雙重乳化物
- S1 . . . 外層水相溶液
- S2 . . . 中層有機相溶液
- S3 . . . 包覆物水相溶液

第 2 圖

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種微脂體製備裝置，特別是關於一種以雙重乳化法為基礎之微脂體製備裝置。

【先前技術】

微脂體(Liposome)，又稱為微脂粒或脂質小體，於1965年由英國劍橋 Babraham Institute 的 Alec Bangham 團隊首次報導。微脂體在結構上是一種脂質空心微球，體徑約 0.025~3.5 μm ，可懸浮於水相中。微脂體之脂質膜主要是由磷脂分子所構成的脂質雙層(lipid bilayers)。磷脂分子的磷酸端為親水性，脂質端為疏水性，由此所形成的脂質層雙面為親水，夾層內為疏水之膜，恰似紅血球膜或細胞膜。由於其雙層結構，類似於細胞膜，微脂體可用於封裝親水性和離子性的物體並被用來作為藥物載體。這種微脂體用作藥物傳遞系統具有下列功能：可封裝親水性與離子性藥品並具有生物相容性(biocompatibility)及生物降解性(biodegradability)的功能，有能力保護藥物通過代謝系統後進入體內，並有緩解和控制的能力，可當做水性物質及油性物質之載體。無論應用於生物醫學、奈米生技、生化分析、細胞膜模擬方面皆具有相當大的潛力。

製備微脂體之方法包括有薄膜水合法(thin-film hydration method)、注射法(injection method)、逆相蒸發法(reverse-phase evaporation, REV)以及雙重乳化法(double emulsion)等，其中與本發明最為相關的即是雙重乳化法。

參閱第 1(A)-1(E)圖，其係顯示習知雙重乳化法製備微脂體之示意圖。製備過程簡介如下：首先將高濃度脂質溶於有機溶劑中(第 1(A)圖)，接著加入少量水溶液(第 1(B)圖)並使水滴藉由脂質穩定分散於有機溶劑中(第 1(C)圖)。接著將此乳化物注入水中而形成水包油包水雙重乳化物(water-in-oil-in-water double emulsion, W/O/W double emulsion) (第 1(D)圖)，最後利用旋轉減壓濃縮機或靜置一段時間，使有機溶劑蒸發而形成單層微脂體(第 1(E)圖)。製備得之微脂體大小取決於起始水滴之大小。雙重乳化法通常需要精密之微流道系統(microfluidic system)，但優點是可得極高之包覆效率。

【發明內容】

本發明所欲解決之技術問題

然而，上述各種習知製備微脂體的方法具有以下缺點，例如：

1. 微脂體包覆效率偏低。
2. 合成微脂體過程通常需要音波震盪(可能會降低包覆效率)或精密之微流道系統(僅能合成微米尺寸的微脂體)。
3. 傳統合成微脂體之方法通常無法透過程序化量產。

緣此，本發明之一目的即是提供一種微脂體製備裝置，以解決習知方法之微脂體包覆效率偏低與無法透過程序化量產之缺點。

本發明之另一目的即是提供一種製備微脂體之方法，同樣可用以解決習知方法之微脂體包覆效率偏低與無法透過程序化量產之缺點。

本發明解決問題之技術手段

本發明為解決習知技術之問題所採用之技術手段係為一種微脂體製備裝置，用以改善微脂體包覆效率偏低與無法透過程序化量產之缺點。微脂體製備裝置包括：一反應管，具有一收集管、一第一輸入口及一第二輸入口，該收集管係嵌置於該反應管中一預定位置，該第一輸入口係用以輸入一外層水相溶液，該第二輸入口係用以輸入一中層有機相溶液；一包覆物水相溶液輸入單元，具有一過濾器，該過濾器係鄰近於該收集管且連通結合該包覆物水相溶液輸入單元之一端，該包覆物水相溶液輸入單元之另一端係可用以輸入一包覆物水相溶液；其中該外層水相溶液及中層有機相溶液在輸入該反應管後，控制使其接觸並交界於該過濾器與該收集管之間，在該包覆物水相溶液由該包覆物水相溶液輸入單元輸入後，先經過該過濾器過濾，而後依序通過該中層有機相溶液及該外層水相溶液，最終形成該複數個微脂體後進入該收集管中予以收集。

本發明對照先前技術之功效

經由本發明所採用之技術手段，利用針式過濾器與玻璃裝置，以雙重乳化法為基礎，研發設計出本發明之微脂體製備裝置，具有簡便操作且可自動化量產之優點，且不需透過音波震盪或精密之微流道系統，即可用於合成奈米尺寸並具高包覆效率之微脂體，可大量應用在生物醫學、奈米生技、生化分析、細胞膜模擬、藥物傳遞及疾病治療等方面。

本發明所採用的具體實施例，將藉由以下之實施例及附呈圖式作進一步之說明。

【實施方式】

定義

1. 微脂體(Liposome)：

由脂質雙層(lipid bilayer)排列形成之空心圓球體，其結構與生物細胞膜之結構十分相似，並可包覆部分溶液於其空腔內。可被應用於基因傳遞與治療(gene delivery and therapy)、藥物傳遞與釋放(drug delivery and release)以及免疫分析(immunoassay)等生物醫學領域。

2. 雙重乳化法(Double emulsion)：

為在互不相溶的液體中分散出微小液滴之技術。首先將高濃度脂質溶於有機溶劑中，接著加入少量水溶液並使水滴藉由脂質穩定分散於有機溶劑中。接著將此乳化物注入水中而形成水包油包水雙重乳化物，最後利用旋轉減壓濃縮機或靜置一段時間，使有機溶劑蒸發而形成單層微脂體。

3. 水包油包水雙重乳化物 (Water-in-oil-in-water double emulsion, W/O/W double emulsion)：

最內層為水層，中間層為有機溶劑層，外層連續相(continuous phase)為水層之乳化物。

4. 包覆效率(Encapsulation efficiency)：

$$\frac{\text{包覆於微脂體內之包覆物量}}{\text{使用於包覆之包覆物量}} \times 100\%$$

第一實施例

參閱第 2 圖，係為本發明第一實施例之微脂體製備裝置剖面

示意圖。如圖所示，微脂體製備裝置 100 主要包括一反應管 1 及一包覆物水相溶液輸入單元 2。本實施例中反應管 1 可以是一玻璃管，或其他化物性相容材質且具有相同功能、及適當空間之容器、反應槽等，並非僅限於本實施例之玻璃管。

反應管 1 具有一收集管 11、一第一輸入口 12 及一第二輸入口 13。收集管 11 係嵌置於反應管 1 中一預定位置，可用於收集最終形成之水包油包水雙重乳化物 L，該水包油包水雙重乳化物 L 去除有機溶液後形成微脂體。第一輸入口 12 係用以輸入一外層水相溶液 S1，而第二輸入口 13 係用以輸入一中層有機相溶液 S2，係分別用於形成水包油包水雙重乳化物 L 之外層及中層。

包覆物水相溶液輸入單元 2，具有一過濾器 21。在本實施例中，過濾器 21 係為玻璃篩，但並非僅限於此，亦可為其他化物性相容材質且具有過濾功能之適當過濾裝置，例如針式過濾器，惟過濾裝置的過濾孔徑大小與所形成的微脂體大小有關，可視需要應用不同適當孔徑之過濾裝置。在反應管 1 中，過濾器 21 係鄰近於收集管 11，且連通結合包覆物水相溶液輸入單元 2 之一端，包覆物水相溶液輸入單元 2 之另一端係可用以輸入一包覆物水相溶液 S3，也就是欲包覆於微脂體內的溶液成分。其中包覆物水相溶液 S3 所包含的水溶性物質雖以螢光染劑為例，但所包覆者亦可為一種藥物，或顯影劑。

關於微脂體製備裝置 100 形成微脂體之流程及原理，首先簡述如下：將外層水相溶液 S1 及中層有機相溶液 S2 輸入反應管 1 之後，藉由有機相與水相兩者不相溶的特性，控制使其接觸並交界於該過濾器 21 與該收集管 11 之間，在包覆物水相溶液 S3 由包覆物水相溶液輸入單元 2 輸入後，先經過過濾器 21 過濾，而

後依序通過中層有機相溶液 S2 及外層水相溶液 S1，最終形成複數個水包油包水雙重乳化物 L 後進入該收集管 11 中予以收集。

第二實施例

參閱第 3 圖，係顯示本發明第二實施例之製備微脂體之方法之步驟流程圖，本實施例係基於雙重乳化法之製備原理，同時使用如第一實施例所述之微脂體製備裝置 100(請同時參閱第 2 圖)，可使微脂體製備具有高包覆效率、簡便、可程序化之效果。

步驟 101，分別製備一外層水相溶液 S1、一中層有機相溶液 S2 以及一包覆物水相溶液 S3：

- (1) 本實施例之中層有機相溶液 S2 係由一有機溶劑及至少一磷脂質所組成，有機溶劑係為氯仿，而磷脂質包括二棕櫚酸磷脂醯膽鹼(dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC)及二棕櫚酸醯磷脂醯甘油 (dipalmitoylphosphatidylglycerol, DPPG)，或其他磷脂質。稱取重量比為 10：1 之二棕櫚酸磷酸脂膽鹼(dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC)與二棕櫚酸醯磷脂醯甘油 (dipalmitoylphosphatidylglycerol, DPPG)(摻雜 DPPG 之目的在於降低微脂體之聚集程度與增加穩定性)溶於適量氯仿中，得到適當濃度之 DPPC/DPPG 混合溶液，並裝載於 5 mL 玻璃注射針中，即為本實施例之中層有機相溶液 S2。

此外，在中層有機相溶液 S2 中額外添加 0.1 mM Nile red (疏水性螢光染劑，UV/Vis 最大吸收波長為 543 nm，螢光最大放射波長為 610 nm)，有助於透過螢光顯微鏡(fluorescence microscope)觀察微脂體之水油分布情形。其中中層有機相溶液 S2 所包含的疏水性物質雖以螢光染劑為例，但亦可為一種

藥物，或顯影劑。

- (2) 配製 5 mL 適當濃度之 5(6)-carboxyfluorescein (水溶性螢光染劑，UV/Vis 最大吸收波長為 492 nm，螢光最大放射波長為 517 nm) 於二次去離子水中，並裝載於 3 mL 塑膠注射針中，即為本實施例之包覆物水相溶液 S3。
- (3) 取一支 3 mL 塑膠注射針，裝載入二次去離子水，即為本實施例之外層水相溶液 S1。
- (4) 製備完成後，將過濾器 21 (玻璃篩) 連接上反應管 1 (如第 2 圖所示)，並可透過聚乙烯管與注射針連接，再將注射針固定於輸液幫浦上 (圖未示)，透過輸液幫浦之作用可將各溶液分別以一預定流速輸入反應管 1 中。本實施例中，流速設定分別為包覆物水相溶液：0.30 mL/h (相對中速)、中層有機相溶液：0.15 mL/h (相對慢速)、外層水相溶液：0.50 mL/h (相對快速)。

步驟 102，分別將外層水相溶液 S1 及中層有機相溶液 S2 輸入微脂體製備裝置 100 之反應管 1 中，控制使其接觸並交界於該微脂體製備裝置 100 之過濾器 21 與收集管 11 之間 (參第 2 圖所示)。

步驟 103，輸入包覆物水相溶液 S3 並經由過濾器 21 過濾後，受到該中層有機相溶液 S2 包覆形成一油包水 (water-in-oil) 形態乳化物 (可參閱第 1(C) 圖)。

步驟 104，該複數個油包水形態之微脂粒通過該外層水相溶液 S1 後受其包覆形成一水包油包水 (water-in-oil-in-water) 形態雙重乳化物 (可參閱第 1(D) 圖)。

步驟 105，將步驟 104 之水包油包水形態雙重乳化物中的有機相予以移除。本實施例中係利用旋轉減壓濃縮機 (100 mbar, 50°C, 30 分鐘)，將氯仿移除，以得到複數個微脂體。

步驟 106，將步驟 105 之溶液中未受到包覆之包覆物水相溶液 S3 予以移除。本實施例中係利用透析法(dialysis)將未被包覆之水溶性螢光染劑(5(6)-carboxyfluorescein)除去。

為方便清楚觀察利用本發明所合成的微脂體，在前述之步驟中選擇使用孔徑 5–10 μm 之玻璃篩，以得到較大尺寸之微脂體，透過螢光顯微鏡可觀察經過移除氯仿後所得之水溶液樣品。

參閱第 4(A)-4(C)圖，係分別顯示(A)相對比(phase contrast)模式下之顯微鏡照片 (B)觀測 Nile red 螢光之顯微鏡照片 (C)觀測 carboxyfluorescein 螢光之螢光顯微鏡照片。如圖所示，可發現球型粒子之存在(即為微脂體)，其大小多小於 10 μm 。由第 4(A)-4(C)圖之結果顯示出微脂體上同時具有 Nile red 與 carboxyfluorescein 兩種螢光染劑。

為了更進一步清楚觀察染劑於樣品中之分布情形，遂利用雷射掃描共軛聚焦顯微鏡(laser scanning confocal microscope)針對樣品中之微脂體進行觀察。

參閱第 5(A)-5(C)圖，係分別顯示(A) 為觀測 Nile red 螢光之顯微鏡照片，(B)為觀測 carboxyfluorescein 螢光之顯微鏡照片，(C)為(A)與(B)兩張照片之疊圖。比較第 5(A)-5(B)圖可以發現：疏水性螢光染劑 Nile red 螢光多分布於樣品粒子外圍，顯現出磷脂質分子在粒子上的位置；而水溶性螢光染劑 carboxyfluorescein 螢光則均勻分布於樣品粒子內部。再經過疊圖(如第 5(C)圖所示)

可同時顯示出包覆物水相溶液與磷脂質分子在同一粒子上的分布情形。綜合以上觀測結果，表示利用本發明所產生的球型粒子，即為由 W/O/W 雙重乳化物形成之微脂體。

第三實施例

在第二實施例中成功合成較大尺寸之微脂體後，本實施例係為在合成過程中選擇使用濾膜孔徑為 0.45 μm 之針式過濾器，以得到較小尺寸之微脂體。在使用針式過濾器時，並將外層水相溶液之輸液幫浦之流速設定減慢為 0.20 mL/h，除此之外，其他步驟流程皆相似於第二實施例，故在此不再贅述。

其結果參閱第 6(A)-6(D)圖，係分別顯示雙重乳化物經過自然蒸發(A)14 (B)22 (C)38 (D)46 小時後之粒徑分布。欲使在步驟 104 所得之雙重乳化物形成微脂體，可經過靜置一段時間以待氣仿蒸發。透過粒徑分析儀(particle size analyzer)分析雙重乳化物之大小隨氣仿蒸發時間的連續變化。由第 6(A)-6(D)圖顯示，利用本發明所合成的雙重乳化物，隨氣仿蒸發(14、22、38 與 46 小時)而逐漸縮小，在 46 小時後維持穩定大小並形成微脂體(直徑約為濾膜孔徑之 1/4)。而本發明為進一步縮短製備微脂體之時間，遂利用旋轉減壓濃縮機以加速氣仿蒸發，在 100 mbar、50°C 下蒸發 30 分鐘後可得到與自然蒸發 46 小時後尺寸相近之微脂體。

第四實施例

以雙重乳化法製備得之微脂體大小取決於起始水滴(包覆物水相溶液)之大小，本實施例在合成過程中分別選擇使用濾膜孔徑 0.22 μm 與 0.45 μm 之針式過濾器，以測試針式過濾器孔徑對於微脂體大小之影響，並透過粒徑分析儀分析兩種微脂體之大小。

其結果參閱第 7(A)-7(B)圖，係分別顯示使用濾膜孔徑(A) 0.22 μm 與(B) 0.45 μm 之針式過濾器所合成的微脂體粒徑分布。透過粒徑分析儀分析兩種微脂體之大小如第 7(A)-7(B)圖所示。顯示利用本發明設計之裝置(流速設定：內層 0.30 mL/h、中層 0.15 mL/h、外層 0.20 mL/h)所合成的微脂體大小，與所使用之濾膜孔徑成直接關係(direct relation)，且直徑皆約為濾膜孔徑之 1/4。

利用螢光光譜儀(fluorescence spectrophotometer)可計算出包覆螢光染劑之微脂體的包覆效率。本發明對於包覆效率之定義如下：

$$\frac{\text{包覆於微脂體內之螢光染劑量}}{\text{使用於包覆之螢光染劑量}} \times 100\% \\ = \frac{\text{微脂體打破後所得之螢光染劑濃度}}{\text{內層水相溶液之螢光染劑濃度}} \times 100\%$$

依據 carboxyfluorescein 標準品所得之檢量線 (判定係數，coefficient of determination, $R^2 = 0.994$)計算所得，利用本發明設計之裝置所合成的微脂體之包覆 carboxyfluorescein 效率如表一所示，分別約為 24% (使用孔徑 0.22 μm 之過濾膜)與 28% (使用孔徑 0.45 μm 之過濾膜)。

表一 本發明微脂體製備裝置所合成的微脂體之包覆 carboxyfluorescein 效率

包覆物	過濾膜孔徑	包覆效率
5(6)-Carboxyfluorescein	0.22 μm	24%
	0.45 μm	28%

微脂體包覆水溶性物質之效率，與合成微脂體之方法關係甚大。而包覆物性質與磷脂質組成成分亦可能影響包覆效率。透過不同方法合成微脂體之相關文獻【1-5】與本發明合成方法之包覆效率比較如表二所示。比較表二中各種合成微脂體之方法，可發現經由薄膜水合法或逆相蒸發法製備所得之微脂體，其包覆效率普遍低於30%；而透過雙重乳化法合成之微脂體，則通常可得到較高之包覆效率。利用本發明設計之裝置所合成的微脂體，其包覆 carboxyfluorescein 效率分別約為24%與28%，相較文獻【1, 3】明顯高出許多，顯示本發明之合成方法確實可製備高包覆效率之微脂體。

表二 微脂體合成方法與包覆效率之文獻比較

微脂體合成方法	包覆物	磷脂質組成	包覆效率
薄膜水合法【1】	5(6)-Carboxyfluorescein	DPPC/DPPG	1.0%
薄膜水合法【2】	質體去氧核糖核酸	POPC/PLPC/SOPC	27%
逆相蒸發法【3】	5(6)-Carboxyfluorescein	Egg PC	0.31–3.10%
逆相蒸發法【4】	Sodium mercaptoundeca-hydrododecarborate	DSPC/DSPE-PEG	6–8%
雙重乳化法【5】	Calcein	Soybean PC	62.6–69.2%
雙重乳化法(本發明)	5(6)-Carboxyfluorescein	DPPC/DPPG	~26%

由以上之實施例可知，本發明所提供之微脂體製備裝置確具產業上之利用價值，故本發明業已符合於專利之要件。惟以上之敘述僅為本發明之較佳實施例說明，凡精於此項技藝者當可依據上述之說明而作其它種種之改良，惟這些改變仍屬於本發明之發

明精神及以下所界定之專利範圍中。

【圖式簡單說明】

第 1(A)-1(E)圖係顯示習知雙重乳化法製備微脂體之示意圖；

第 2 圖係顯示本發明第一實施例之微脂體製備裝置剖面示意圖；

第 3 圖係顯示本發明第二實施例之製備微脂體之方法之步驟流程圖；

第 4(A)-4(C)圖係分別顯示(A)相對比(phase contrast)模式下之顯微鏡照片 (B)觀測 Nile red 螢光之顯微鏡照片 (C)觀測 carboxyfluorescein 螢光之螢光顯微鏡照片；

第 5(A)-5(C)圖係分別顯示(A)為觀測 Nile red 螢光之顯微鏡照片，(B)為觀測 carboxyfluorescein 螢光之顯微鏡照片，(C)為(A)與(B)兩張照片之疊圖；

第 6(A)-6(D)圖係分別顯示雙重乳化物經過自然蒸發(A)14 (B)22 (C)38 (D)46 小時後之粒徑分布；

第 7(A)-7(B)圖係分別顯示使用濾膜孔徑(A) 0.22 μm 與(B) 0.45 μm 之針式過濾器所合成的微脂體粒徑分布。

【主要元件符號說明】

- 100 微脂體製備裝置
- 1 反應管
- 11 收集管
- 12 第一輸入口
- 13 第二輸入口
- 2 包覆物水相溶液輸入單元
- 21 過濾器
- L 水包油包水雙重乳化物
- S1 外層水相溶液
- S2 中層有機相溶液
- S3 包覆物水相溶液

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99 100 216 A61k 9/27 (2006.01)
 ※申請日：99 1 17 ※IPC 分類：A61k 49/18 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

雙重乳化法製備微脂體之新型裝置/Development of a new device for the preparation of liposomes using double emulsion template

二、中文發明摘要：

本發明係為一種微脂體製備裝置，包括一反應管及一包覆物水相溶液輸入單元。反應管具有一收集管、一第一輸入口及一第二輸入口。包覆物水相溶液輸入單元具有一過濾器。製備微脂體時，係將一外層水相溶液及一中層有機相溶液輸入反應管後，控制使其接觸並交界於過濾器與收集管之間，在包覆物水相溶液輸入後，先經過過濾器過濾，而後依序通過該中層有機相溶液及外層水相溶液，形成複數個微脂體後進入收集管中予以收集。其具有簡便操作、可自動化量產之優點，不需透過音波震盪或精密之微流道系統，即可合成奈米尺寸並具高包覆效率之微脂體。

三、英文發明摘要：

A simple-used and programmable injection device was developed, using syringe filter (glass sieve) and glass device, to manufacture liposomes with high encapsulation efficiency based on double emulsion template. First of all, aqueous solutions and lipids in chloroform were injected into the glass device by infusion pumps

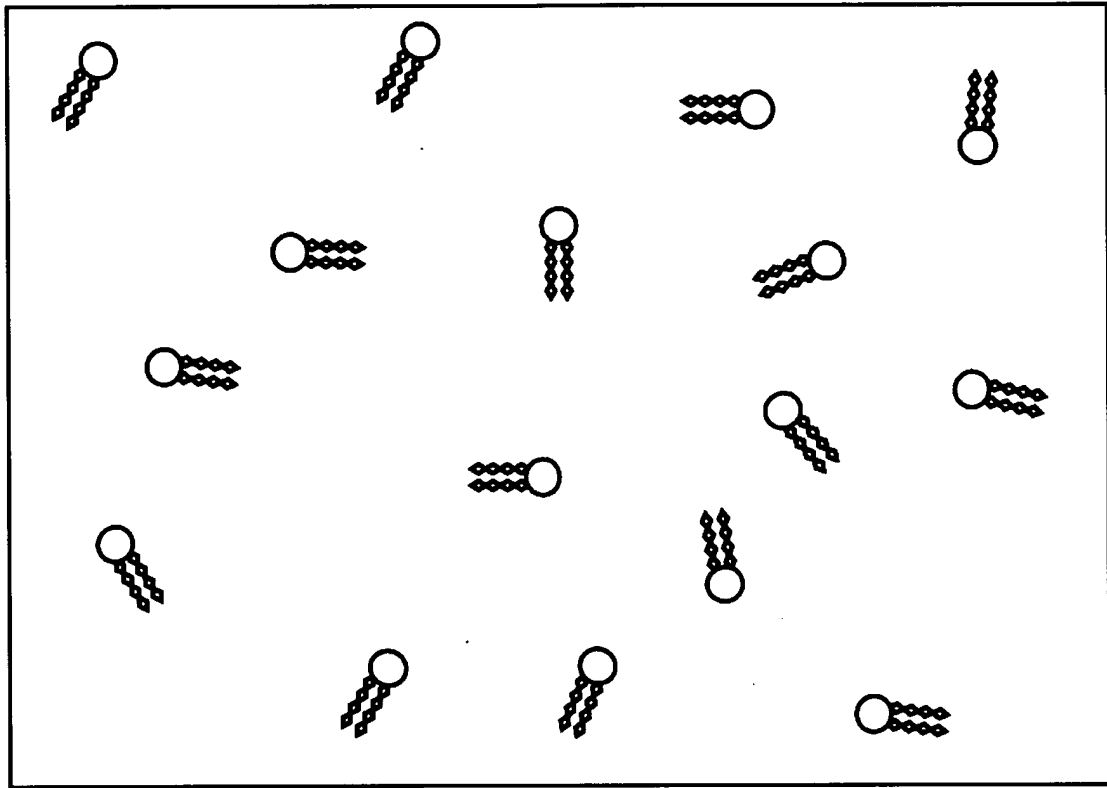
respectively to form water-in-oil-in-water double emulsions. It was followed by the removal of chloroform by rotary evaporator for converting double emulsions to liposomes. At the end of the process, non-encapsulated fluorescent dye molecules were separated from liposomes by dialysis. The encapsulation efficiencies of liposomes are around 26%, and the expected size of liposomes could be achieved by syringe filter membranes with designated pore size. This device is workable without sonicator or delicate microfluidic system, and is suitable for manufacture of liposomes as carriers of signal molecules or drugs with high encapsulation efficiency.

體製備裝置之過濾器與收集管之間；

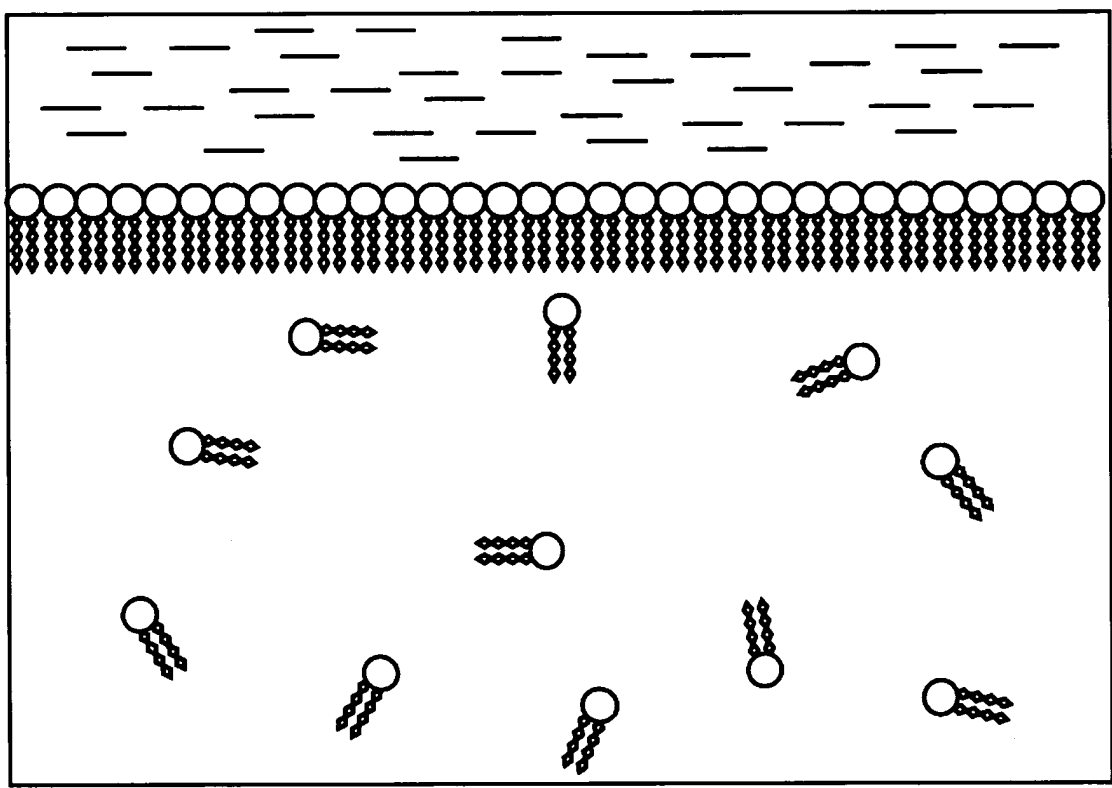
- (c) 輸入該包覆物水相溶液並經由該過濾器過濾後，受到該中層有機相溶液包覆形成一油包水(water-in-oil)形態乳化物；
 - (d) 該複數個油包水形態之微脂粒通過該外層水相溶液後受其包覆形成一水包油包水(water-in-oil-in-water)形態雙重乳化物。
 - (e) 係將步驟(d)之水包油包水形態雙重乳化物的有機相予以移除以得到該複數個微脂體。
15. 如申請專利範圍第 14 項所述之方法，其中在完成步驟(e)之後更包括一步驟(f)，係將步驟(e)之溶液中未受到包覆之包覆物水相溶液予以移除。
16. 如申請專利範圍第 14 項所述之方法，其中在步驟(e)係使用一旋轉減壓濃縮機以加速該有機相之移除。

八、圖式：

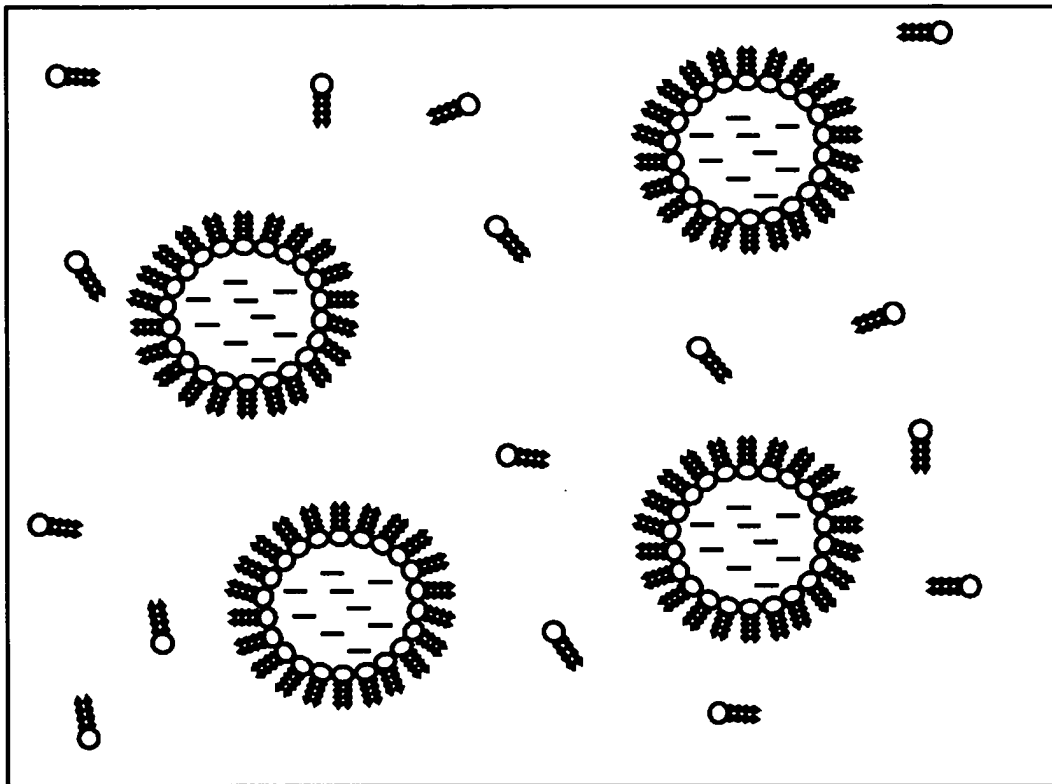
公告本



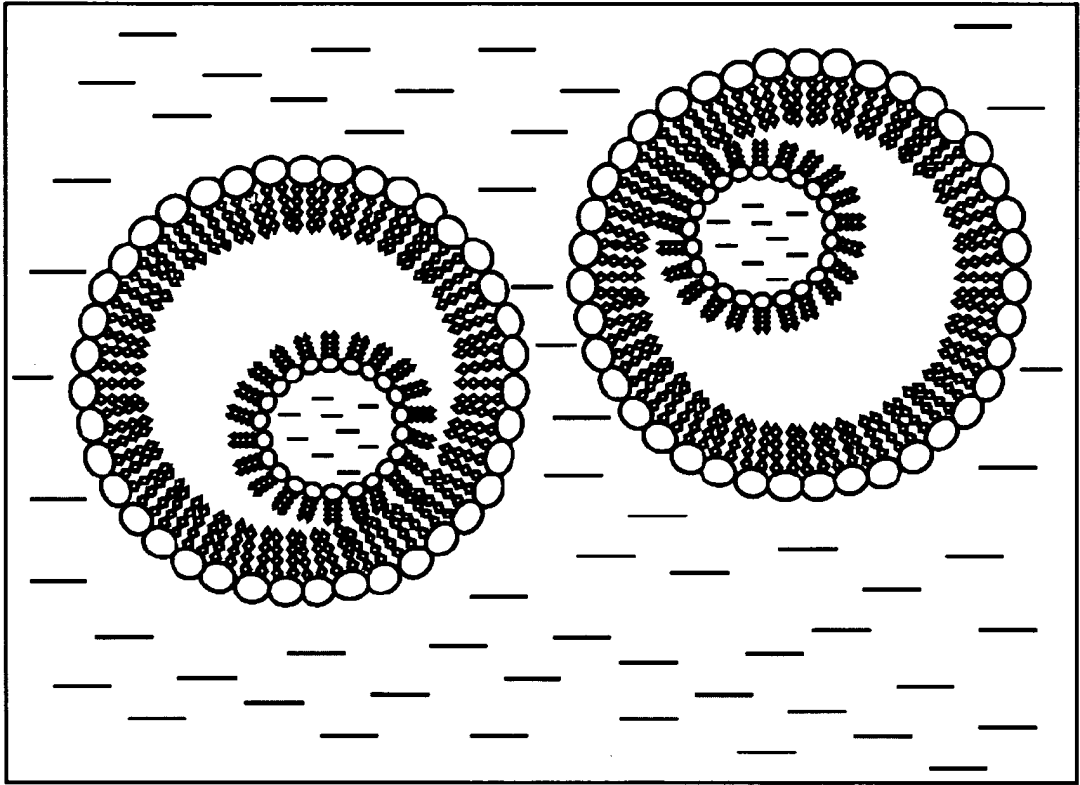
第 1A 圖



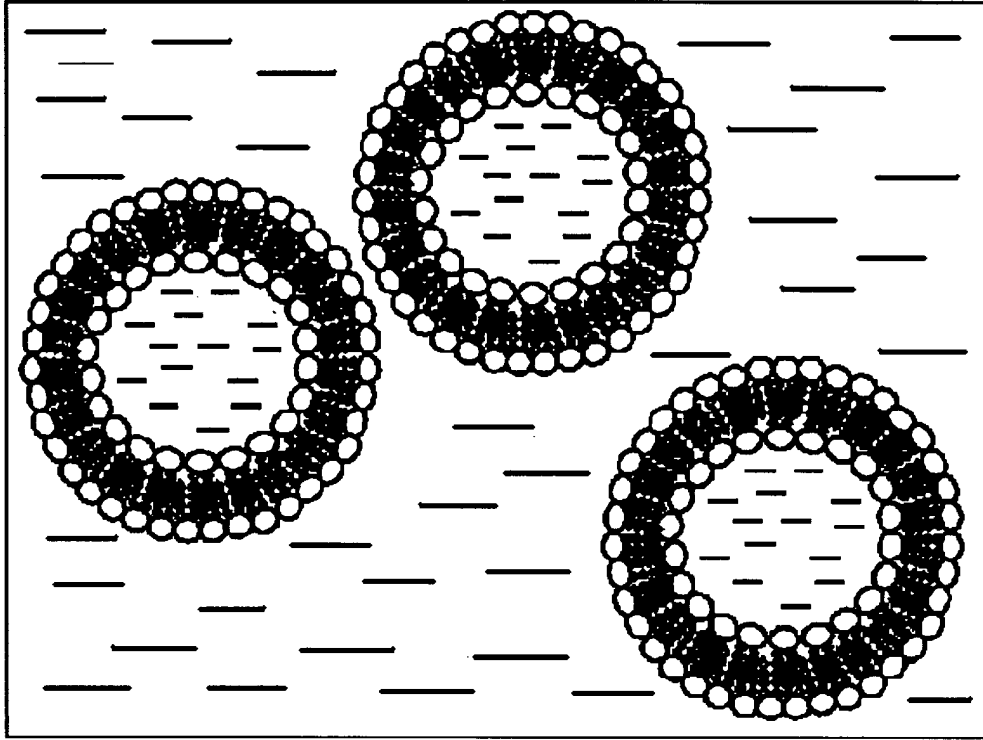
第 1B 圖



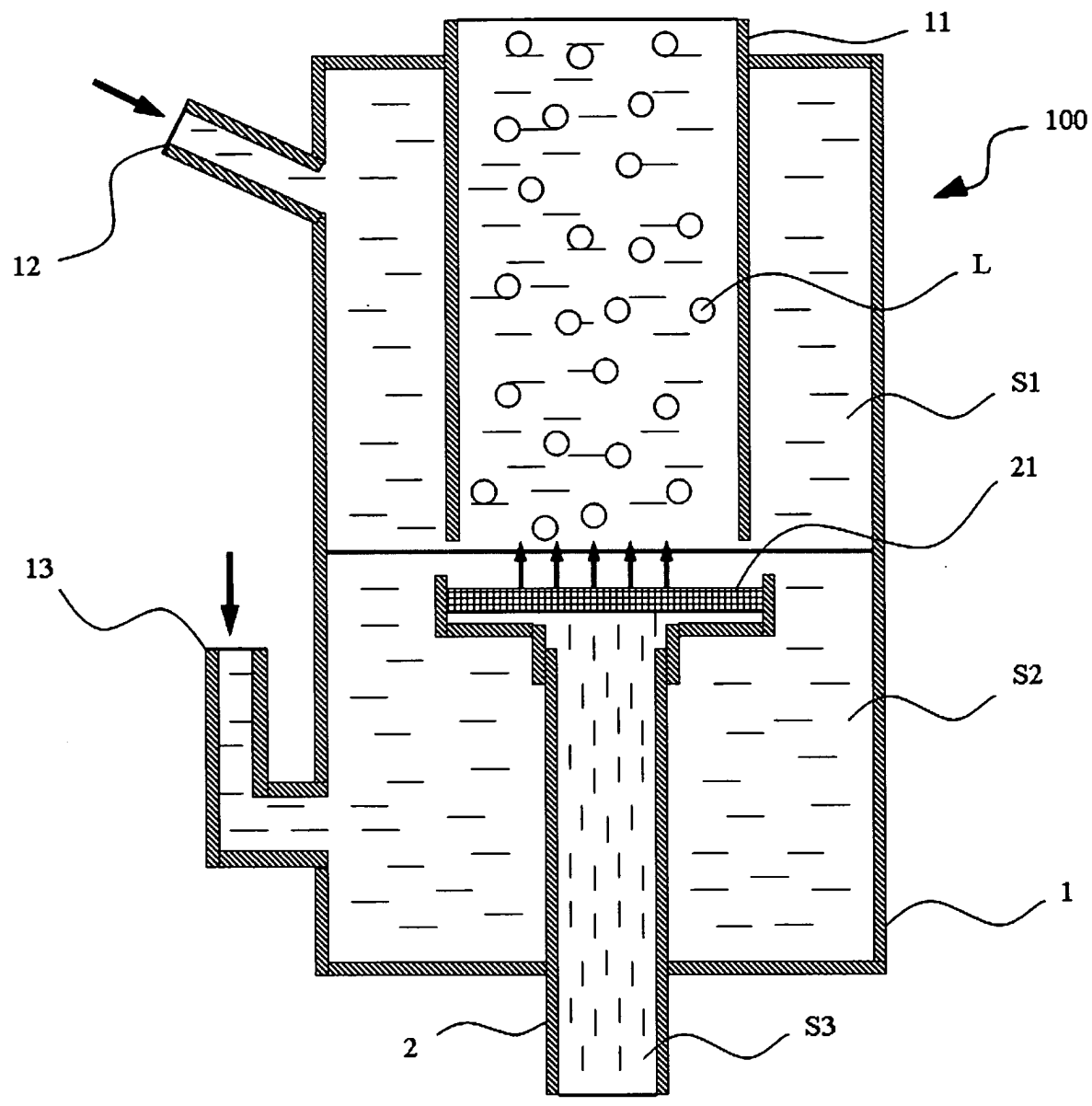
第 1C 圖



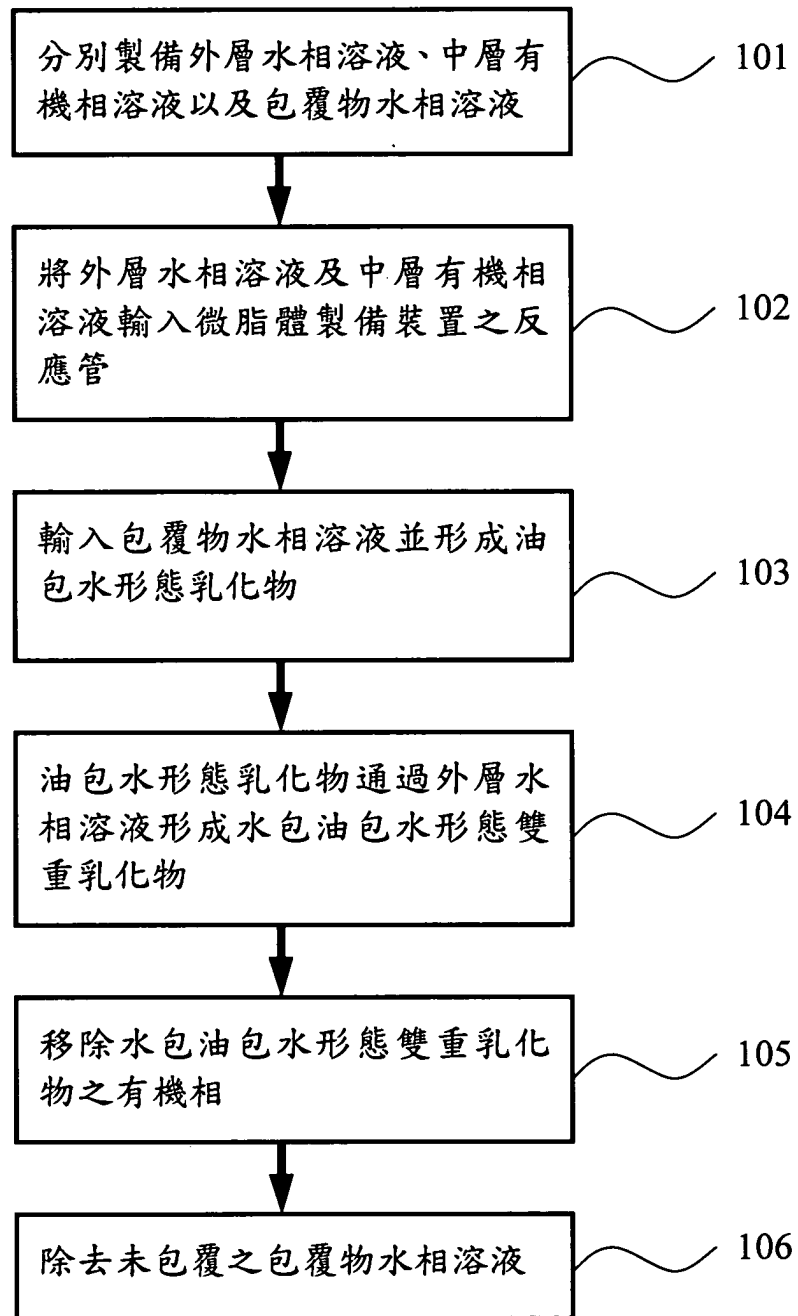
第 1D 圖



第 1E 圖



第 2 圖



第 3 圖

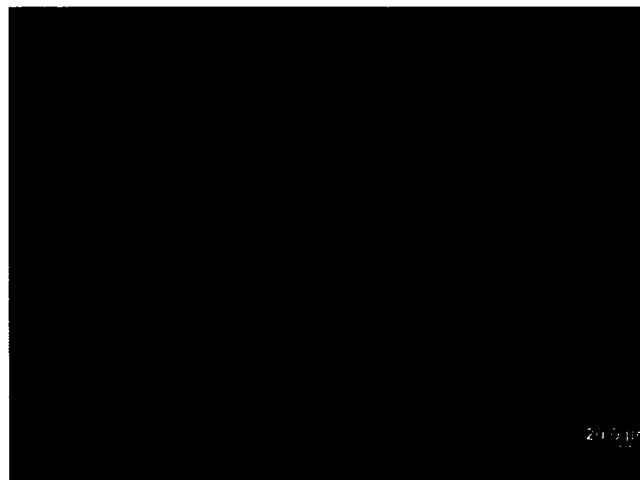
(A)



(B)

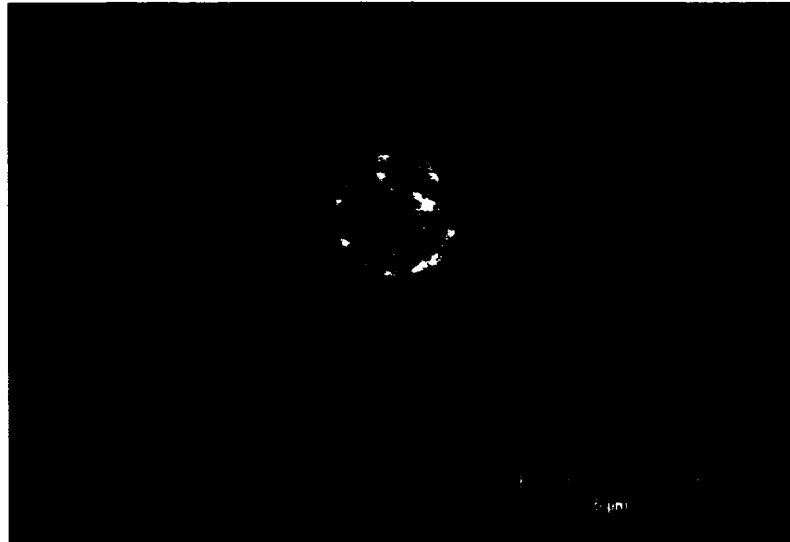


(C)

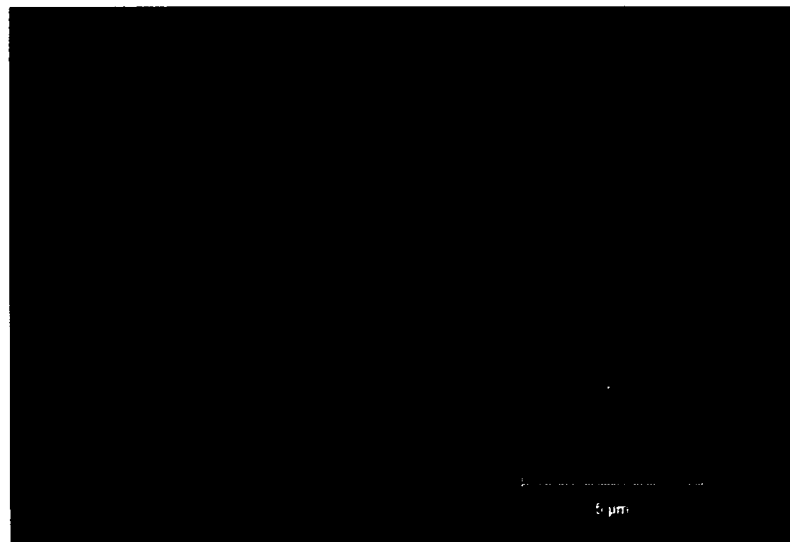


第 4 圖

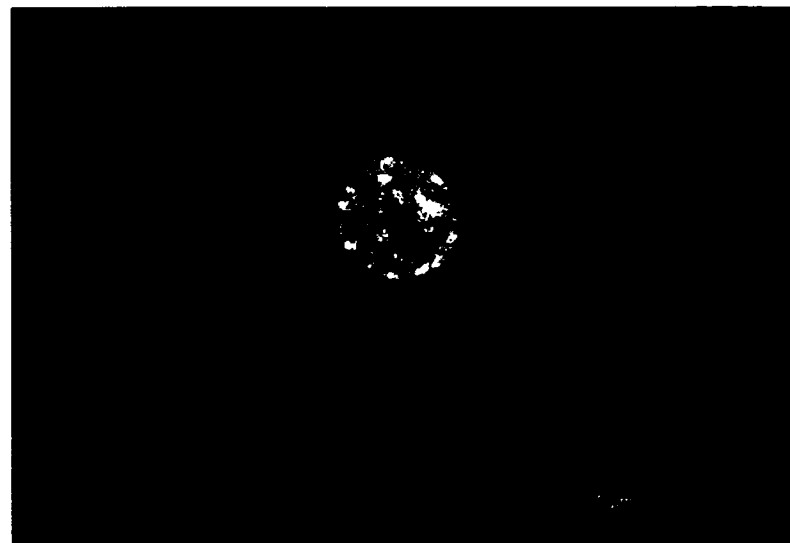
(A)



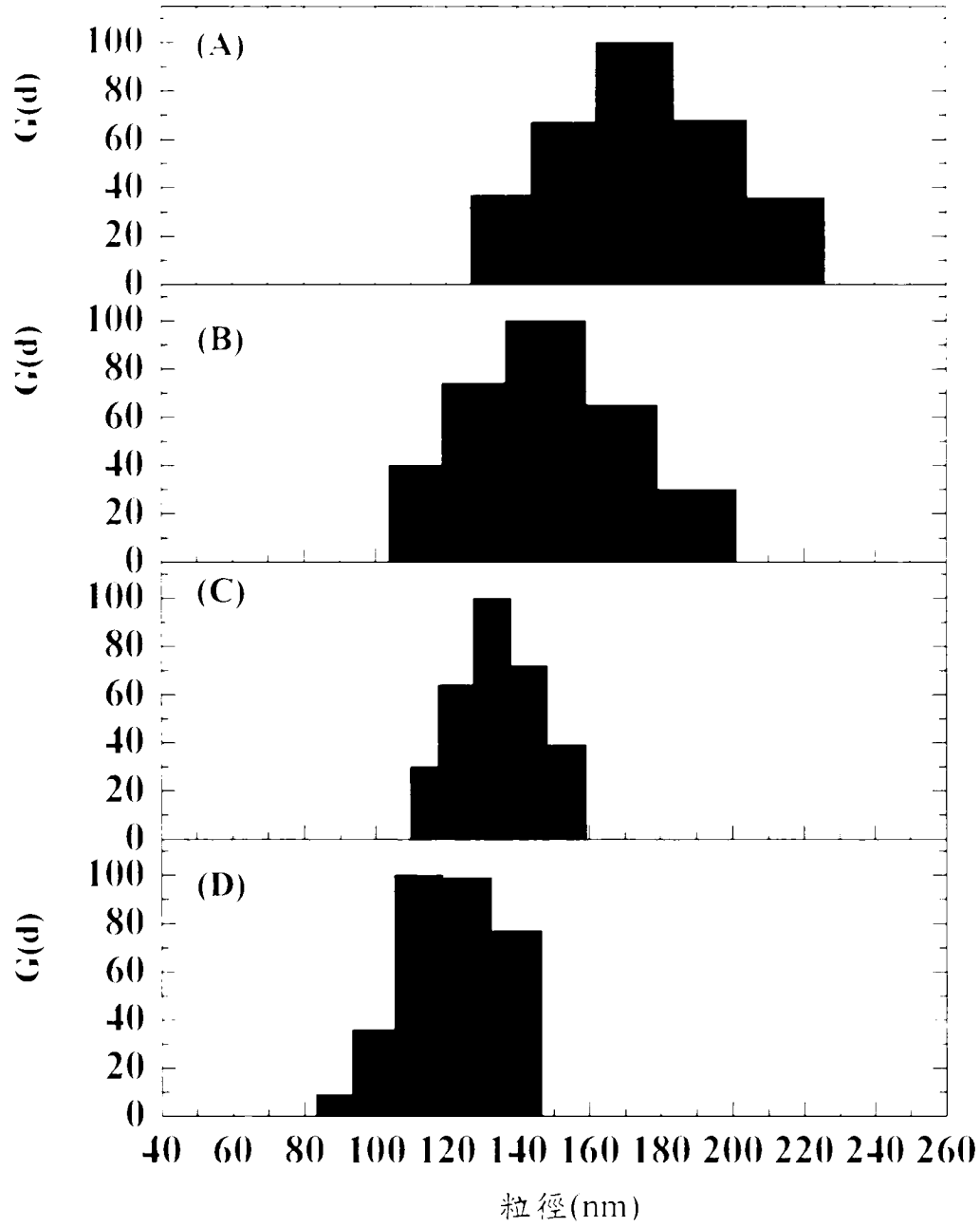
(B)



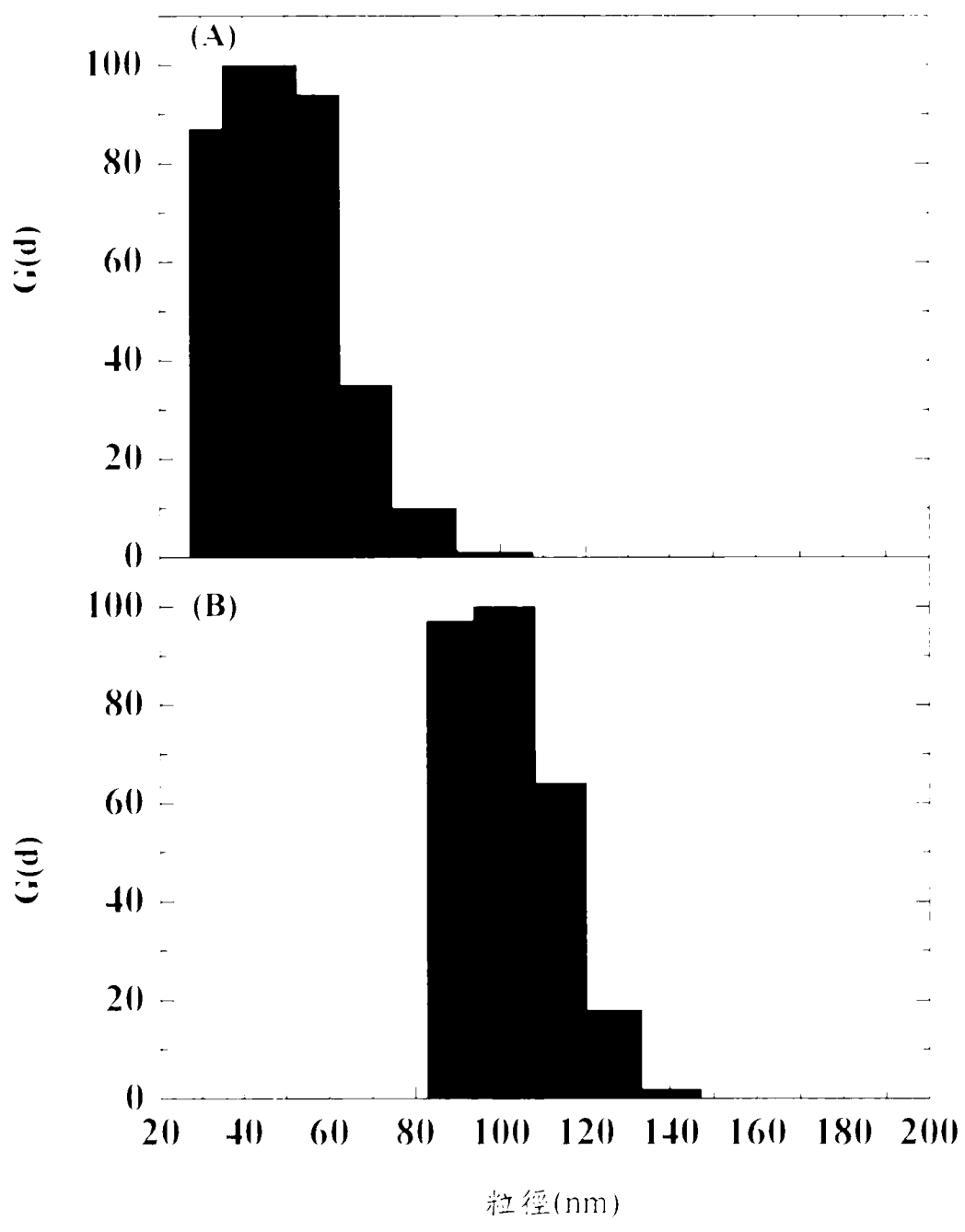
(C)



第 5 圖



第 6 圖



第 7 圖

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 2 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

100	微脂體製備裝置
1	反應管
11	收集管
12	第一輸入口
13	第二輸入口
2	包覆物水相溶液輸入單元
21	過濾器
L	水包油包水雙重乳化物
S1	外層水相溶液
S2	中層有機相溶液
S3	包覆物水相溶液

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：
無。

七、申請專利範圍：

1. 一種微脂體製備裝置，用以可程序化地形成複數個微脂體，包括：

一反應管，包含：

一收集管，嵌置於該反應管中一預定位置；

一第一輸入口，用以輸入一外層水相溶液；以及

一第二輸入口，用以輸入一中層有機相溶液；

一包覆物水相溶液輸入單元，包含：

一過濾器，係鄰近於該收集管且連通結合該包覆物水相溶液輸入單元之一端，該包覆物水相溶液輸入單元之另一端係可用以輸入一包覆物水相溶液。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該過濾器係為一針式過濾器。
3. 如申請專利範圍第 2 項所述之微脂體製備裝置，其中該針式過濾器之過濾孔徑為 $0.03\mu\text{m}$ 與 $1.0\mu\text{m}$ 。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該過濾器係為一玻璃篩。
5. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該玻璃篩之過濾孔徑為 $1\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ 。
6. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該外層水相溶液、該中層有機相溶液及該包覆物水相溶液係分別經由一輸液幫浦以一預定流速輸入該反應管。

7. 如申請專利範圍第 6 項所述之微脂體製備裝置，其中該外層水相溶液、該中層有機相溶液及該包覆物水相溶液之預定流速之比例範圍為 0.3 : 0.15 : 0.2~0.5。
8. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該中層有機相溶液係由一有機溶劑及至少一磷脂質所組成。
9. 如申請專利範圍第 8 項所述之微脂體製備裝置，其中該磷脂質可選自由二棕櫚酸磷脂醯膽鹼 (dipalmitoylphosphatidylcholine, DPPC)、二棕櫚酸磷脂醯甘油 (dipalmitoylphosphatidyl glycerol, DPPG) 所組成之群組。
10. 如申請專利範圍第 8 項所述之微脂體製備裝置，其中該中層有機相溶液更包含有一疏水性物質。
11. 如申請專利範圍第 10 項所述之微脂體製備裝置，其中該疏水性物質可為螢光染劑、藥物或顯影劑。
12. 如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其中該包覆物水相溶液更包含有一水溶性物質。
13. 如申請專利範圍第 12 項所述之微脂體製備裝置，其中該水溶性物質可為螢光染劑、藥物或顯影劑。
14. 一種製備微脂體之方法，係使用如申請專利範圍第 1 項所述之微脂體製備裝置，其步驟包括：
 - (a) 分別製備一外層水相溶液、一中層有機相溶液以及一包覆物水相溶液；
 - (b) 分別將該外層水相溶液及該中層有機相溶液輸入該微脂體製備裝置之反應管中，控制使其接觸並交界於該微脂