





# 發明專利說明書 107年10月25日修正本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

含半氟化化合物之水乳劑、其使用與製造方法及半氟化化合物之檢測方法/AQUEOUS EMULSION CONTAINING SEMIFLUORINATED COMPOUND, USE OF AND METHODS OF MANUFACTURING THE EMULSION, AND METHOD OF DETECTING THE COMPOUND

## 【技術領域】

【0001】 本發明是有關於一種包括具體的半氟化化合物(semifluorocarbon compound)、中鏈三酸甘油酯(Mid-Chain Triglyceride, MCT)以及乳化劑的水乳劑(aqueous emulsion)，以及此乳劑作為對比劑或對比增強劑的用途。再者，本發明關於使用上述的乳劑來藉由核磁共振造影(MR imaging)診斷檢測發炎的病理狀態。

## 【先前技術】

【0002】 迄今為止，發炎性疾病係全世界發病率以及死亡率的最重要原因。雖然在許多例子中對於急性發炎性疾病(主要由病原體所造成)有有效地診斷以及治療方法，但慢性發炎性疾病的診斷最為困難，且慢性發炎性疾病的治療限於對症措施。非侵入造影方法，如心臟超音波、電腦斷層掃描以及核磁共振光譜提供詳細的解剖學上的訊息，並且因此對於評估器官的功能為有價值的

方法。然而，迄今沒有提出具有高空間解析度且能夠明確地檢測發炎性過程的方法。

**【0003】** 在 2005 年 8 月發表的 *Nature Biotechnology* 第 23 卷，第 8 期，第 983-987 頁中，Arens 等人敘述用於追蹤免疫細胞的方法。藉由全氟-15-冠-5-醚(perfluoro-15-crown-5-ether)的核磁共振造影(magnetic resonance imaging, MRI)方法，嘗試偵測活體內具有免疫相關性(immunotherapeutic relevance)的細胞。他們使用活體外帶有全氟-15-冠-5-醚的樹突細胞。接著，將帶有全氟-15-冠-5-醚的樹突細胞注射至老鼠的組織或靜脈之後在活體內檢查。WO 2005/072780 A2 以及 WO 03/075747 A2 是有關於類似的檢查。在 2003 年 4 月發表的 *Medica Mundi* 47/1 第 34-39 頁，G.M. Lanza 等人敘述使用順磁奈米粒子(paramagnetic nanoparticles)來挑出細胞。於此方法中，使用順磁奈米粒子以產生  $^1\text{H}$  核磁共振圖像中的信號消弱。帶有  $^{19}\text{F}$  的媒介物(vehicles)做為探頭。

**【0004】** WO-A-2005/072780 是有關於使用全氟化碳(perfluoro-carbons)活體外標定分離的細胞，其中揭露活體外標定有全氟化碳之分離的細胞適合用來研究注射之後細胞在生物體內的遷移。

**【0005】** Oku, Naoto 等人(*Biochimica et Biophysica* 1280(1996), 第 149-154 頁)是有關於使用帶有  $^{18}\text{F}$  標定的葡萄糖之微脂體(liposomes)來研究「微脂體流向(liposomal trafficking)」。此方法藉由正子造影(Positron Emission Tomography, PET)診斷實

施。

**【0006】** US 2009/0280055 A1 揭露使用全氟溴辛烷(perfluorooctylbromide)來達到藉由造影方法診斷的目的。

### **【發明內容】**

**【0007】** 本發明的目的為提供一種方法能夠藉由造影方法的手段將特定的病理狀態可視化，如發炎過程，從而識別受影響的區域。

**【0008】** 本發明的再一目的為提供用於心血管疾病之具體診斷的氟碳化合基(fluorocarbon based)診斷試劑，特別是心血管系統之發炎過程的診斷，更具體地為心肌炎(Myocarditis)或發炎性心肌症(inflammatory cardiomyopathy)的診斷。

**【0009】** 本發明的再一目的為提供生物相容的油脂於水乳劑中，水乳劑可以使用於核磁共振光譜法，並且即使在應力條件下，如滅菌也可以穩定地儲存。

**【0010】** 為了對本發明之上述及其他方面有更佳的了解，下文特舉較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下：

### **【圖式簡單說明】**

#### **【0011】**

第 1 圖繪示表 2 中所反映的儲存穩定度之數據，以及關於比較例 9 的數據。

第 1A 圖繪示依照範例 1 至 3 以及比較例 9 之乳劑的粒子成長。

第 1B 圖繪示粒子成長增加於半氟化化合物 F6H8 之濃度的依存關係。

第 1C 圖繪示 MCT 與 F6H8 之不同的混合物的密度測量結果。

第 2 圖繪示表 6 中反映的儲存穩定度測試。

第 3 圖繪示表 8 中反映的儲存穩定度測試之數據。

第 3A 圖繪示依照範例 4 之乳劑的 3 種樣品的測試結果。

第 4 圖繪示依照範例 5 之乳劑的 3 種樣品的測試結果。

第 4A 圖繪示依照範例 6 之乳劑的測試結果。

第 5 圖以示範的方式繪示血池效應(Blood pool effects)。

第 6 圖繪示檢查 MRI 中梗塞的表現。

第 7 圖中顯示 MRI 圖像與組織切片的比較。

第 8 圖繪示測試乳劑於心肌梗塞模式的時間軸。

第 9 圖繪示測試乳劑於心肌炎模式的時間軸。

第 10 圖繪示使用範例 6 組成物處理之動物的梗塞的磁造影結果。

第 11 圖繪示心肌炎造影。

## 【實施方式】

【0012】 本發明第一實施例係一種水乳劑，包括：

a) 如化學式 I 所示的半氟化化合物：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數；

b) 在 20°C 與半氟化化合物互溶的三酸甘油酯；以及

c) 乳化劑。

【0013】 本發明再一具體實施例係一種水乳劑，包括：

a) 如化學式 I 所示的半氟化化合物：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數；

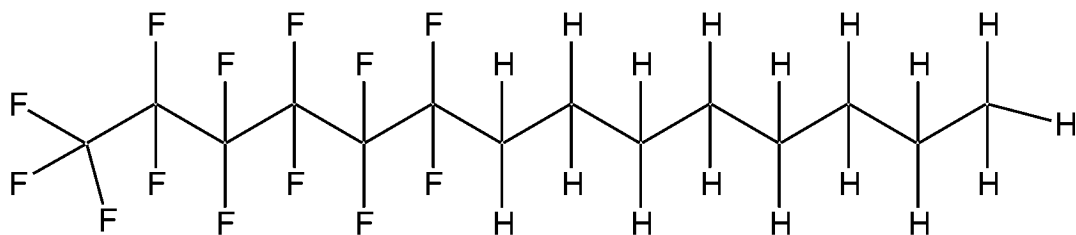
b) 中鏈三酸甘油酯(Mid-Chain Triglyceride, MCT)；以及

c) 乳化劑。

【0014】 本發明的乳劑較佳為水乳劑中的油脂，水乳劑強制地包括半氟化化合物。

【0015】 本發明所指的半氟化化合物係半氟化烷。半氟化烷包括碳氟以及碳氫的部分。通常，半氟化烷遵循下列命名原則：FXHY 其中 X 表示由氟原子取代的碳原子數目，Y 表示氫原子所取代的碳原子數目。舉例來說，藉由化學式 F6H8 表示全氟己基正辛烷(perfluorohexyloctane)。

【0016】 F6H8 如下列化學式所示：



【0017】 適用於本發明之乳劑的半氟化化合物如化學式(I)所示：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數。

【0018】 於一實施例，化學式(I)中的  $x$  係 2 至 6，較佳為 3 至 6，更佳為 4 至 6，尤其是  $x$  係 5。

【0019】 於再一較佳實施例，化學式(I)中的  $y$  係 2 至 9，較佳為 3 至 8，更佳為 5 至 8，進一步優選為 6 至 8，尤其是  $y$  係 7。

【0020】 當化學式(I)的半氟化化合物中  $y$  大於  $x$ ，可以達到好的乳劑之造影以及穩定度。

【0021】 尤其較佳的半氟化化合物係全氟己基正辛烷(perfluorohexyloctane, F6H8)和/或全氟丁基戊烷(perfluorbutylpentane, F4H5)。

【0022】 本發明的再一成份為在 20°C 與半氟化化合物互溶的三酸甘油酯(以下亦稱為化合物 b))。

【0023】 本發明所指的三酸甘油酯(成分 b))若在溫度 20°C 會與半氟化化合物(成分 a))互溶，且混合接著在 20°C 儲存 24 小時之後成分 a)以及成分 b)不形成分離的連續相。

【0024】 一較佳實施例中成分 b)在任何比例都互溶於成分 a)中。特別是，成分 a)以及成分 b)互溶於成分 a)以及成分 b)的重量比為 1 : 20 至 1 : 0.7，較佳為 1 : 15 至 1 : 0.8，更佳為 1 : 10 至 1 : 0.9，進一步優選為 1 : 4 至 1 : 1，尤其是 1 : 2 至 1 : 1。

【0025】 於一替代的實施例中成分 a)比成分 b)的重量比為 1 : 20 至 1 : 0.20，較佳為 1 : 15 至 1 : 0.25，更佳為 1 : 10 至 1 : 0.30，進一步優選為 1 : 4 至 1 : 0.35，尤其是 1 : 2 至 1 : 0.4。

【0026】 於一較佳實施例中，與半氟化化合物互溶的三酸甘

油脂係中鏈三酸甘油脂(MCT)。

【0027】 於一具體實施例中較佳為 F6H8 的成分 a)比 MCT 的重量比為 4 : 1 至 1 : 4，尤其是 3 : 2 至 2 : 3。

【0028】 在此敘述之水乳劑的油脂較佳地包括中鏈三酸甘油脂。「中鏈三酸甘油脂(Medium-Chain Triglycerides, MCTs)」係三酸甘油脂的一類，可以為天然來源或合成。MCTs 從長度為 6 至 14 個碳的脂肪酸形成，較佳為 6 至 12 個碳，尤其是 8 至 10 個碳。MCT 可以包含辛酸(caprylic acid)(舉例來說，約佔 MCT 重量的 50%至 80%)、8-碳飽和脂肪酸(8 : 0)。MCT 可以包含癸酸(capric acid)(舉例來說，約佔 MCT 重量的 20%至 50%)、10-碳飽和脂肪酸(10 : 0)。舉例來說，中鏈三酸甘油脂可以包含辛酸以及癸酸的三酸甘油脂，至少佔中鏈三酸甘油脂重量的 90%。舉例來說，用於此揭露之 MCT 的敘述可以符合歐洲專論(EP monograph)0868 的條件，標題「三酸甘油脂，中鏈」(Triglycerida saturate media) (EP 0868, 2008)。

【0029】 依照本發明之又一方面，中鏈三酸甘油脂(MCT)係被羧酸酯化的甘油，詳細說明如下述：2wt.-%或更少的己酸、約 50wt.-%至 80wt.-%的辛酸、約 20wt.-%至 50wt.-%的癸酸、3wt.-%或更少的月桂酸(lauric acid)、1wt.-%或更少的肉豆蔻酸(myristic acid)，其中重量百分比(wt.-%)係根據脂肪酸的總重量。

【0030】 中鏈三酸甘油脂(MCT)對於半氟化合物係優良的溶劑。依照本發明，可以使用一或多種 MCT。MCT 是市售的，

例如 Miglyol 812 (SASOL GmbH 德國), or CRODAMOL GTCC-PN (Croda Inc, 紐澤西)。

**【0031】** 依照本發明另一較佳實施例，乳劑包括被脂肪酸酯化之甘油所組成的 MCT，脂肪酸包括至少 50wt.-% 由選自具有 7、9 以及 11 個碳原子之脂肪酸所組成的脂肪酸群組。較佳為庚酸三甘油酯(tripheptanoin)。

**【0032】** 根據乳劑的總重量，本發明之乳劑中三酸甘油脂 b) 的含量可為 2wt.-% 至 40wt.-%，較佳為 5wt.-% 至 25wt.-%，且最佳為 8 wt.-% 至 18 wt.-%，其中三酸甘油脂 b) 較佳為中鏈三酸甘油脂。

**【0033】** 根據乳劑的總重量，本發明之較佳的一方面中，半氟化化合物 a) 以及三酸甘油脂 b) 的含量可為 5wt.-% 至 40wt.-%，較佳為 10wt.-% 至 30wt.-%，尤其是 15wt.-% 至 25wt.-%，且特別是 18wt.-% 至 22wt.-%，例如約 20wt.-%。其中三酸甘油脂 b) 較佳為中鏈三酸甘油脂。

**【0034】** 若半氟化化合物 a) 以及三酸甘油脂 b) 的重量比係為 1 : 20 至 1 : 0.7，較佳為 1 : 15 至 1 : 0.8，更佳為 1 : 10 至 1 : 0.9，進一步優選為 1 : 4 至 1 : 1，尤其是 1 : 2 至 1 : 1，例如約 1 : 1.5，其中三酸甘油脂 b) 較佳為中鏈三酸甘油脂，則可以達到半氟化化合物之高濃度的好的平衡以及優良的長期穩定度。

**【0035】** 於一替代的實施例中成分 a) 以及成分 b) 的重量比係為 1 : 20 至 1 : 0.20，較佳為 1 : 15 至 1 : 0.25，更佳為 1 : 10 至

1 : 0.30，進一步優選為 1 : 4 至 1 : 0.35，尤其是 1 : 2 至 1 : 0.4。

**【0036】** 本發明之乳劑包括半氟化化合物以及較佳地中鏈三酸甘油酯(MCT)。依照本發明之一方面，乳劑中的油脂成分在 20°C 形成同質的溶液。MCT 以及半氟化化合物，如 F6H8 在 20°C 互溶，並且因此形成同質的溶液。油脂相更可包括油脂成份，如基於植物油脂或海生動物油脂的長鏈脂肪酸三酸甘油酯，海生動物油脂如魚油。較佳地調整額外之油脂成份的含量，維持完全地互溶的油脂相。一般而言，不同於半氟化化合物以及較佳為 MCT 之三酸甘油酯 b) 的油脂成份的含量小於 50 重量百分比(wt.-%)，較佳為小於 40wt.-%，更佳為小於 30wt.-%，進一步優選為小於 20wt.-%，尤其是小於 10wt.-%，特別是小於 5wt.-% 或實質上不存在，其中含量係根據油脂成份的總重量。

**【0037】** 本發明之乳劑中 MCT 與長鏈三酸甘油酯(Long Chain Triglycerides, LCT) 的重量比通常可為 1 : 1 至 10000 : 1 或更多，較佳為 3 : 2 至 1000 : 1，更佳為 3 : 1 至 500 : 1，尤其是 5 : 1 至 200 : 1。

**【0038】** 可存在於本發明之乳劑中且不同於 MCT 的油脂可選自「長鏈三酸甘油酯」(LCT)。

**【0039】** 於特定實施例中，油脂可包括植物油脂。「植物油脂」指源自植物種子或堅果的油脂。植物油脂典型地為「長鏈三酸甘油酯」(LCT)，形成於當三個脂肪酸(通常長度為 14 至 22 個碳，具有不同數目以及位置的不飽和鍵，這取決於油脂的來源)與甘油

上的三個羥基形成酯鍵。於特定實施例中，使用高純度等級(亦稱為「超精煉」)的植物油脂以確保水中含油(oil-in-water)乳劑的安全性以及穩定度。於具體實施例中，可使用藉由控制植物油脂的氫化來生產的氫化植物油脂。

**【0040】** 示範的植物油脂包括但並不限於杏仁油、巴巴樹油、黑加侖籽油、琉璃苣油、芥花油、蓖麻油、椰子油、玉米油、棉籽油、橄欖油、花生油、棕櫚油、棕櫚仁油、油菜籽油、紅花油、大豆油、向日葵油和芝麻油。亦可使用這些油的氫化的和/或部分氫化的形式。於具體的實施例中，油脂更包括紅花油，芝麻油，玉米油，橄欖油和/或大豆油。於更具體的實施例中，油脂更包括紅花油和/或大豆油。

**【0041】** 於具體的實施例中，油脂更包括大豆油，大豆油可具有 9%至 13%之間的棕櫚酸含量(wt./wt.)、2.5%至 5%之間的硬脂酸含量、17%至 30%之間的油酸含量、48%至 58%之間的亞麻油酸含量以及 5%至 11%之間的次亞麻油酸含量。

**【0042】** 再者，於一具體的實施例中，本發明之水乳劑可包括結構化三酸甘油酯(structured triglycerides)。此處「結構化三酸甘油酯」包括三酸甘油酯或具有至少一個碳鏈長度為 6 至 12 個碳原子之脂肪酸以及至少一個碳鏈長度大於 12 個碳原子之脂肪酸的三酸甘油酯的混合物。

**【0043】** 本發明之乳劑的又一成分為乳化劑。較佳地，乳化劑係選自由磷脂，兩性和離子型表面活性劑，如脂肪酸鹽所組成

的群組。

**【0044】** 根據乳劑的總重量，乳化劑可以含量上限為 10wt.-% 存在於乳劑中，較佳為 0.5wt.-% 至 5wt.-%。較佳地，乳化劑為磷脂或磷脂的混合物。

**【0045】** 一方面乳化劑可包括卵磷脂，較佳為天然存在的卵磷脂，如大豆卵磷脂、蛋黃卵磷脂、葵花籽油卵磷脂、鞘氨醇、神經節苷脂、植物鞘氨醇，以及其組合。亦可額外使用氫化卵磷脂做為乳化劑，即控制氫化之卵磷脂的產物。

**【0046】** 適用於本發明之示範的磷脂包括但不限於磷脂醯膽鹼，磷脂醯乙醇胺，磷脂醯甘油，磷脂酸，溶血磷脂醯膽鹼及其混合物。組成物中的磷脂成分可以為單一磷脂或數種磷脂的混合物。使用的磷脂可以為天然來源或合成，但應該為可適用於非口服的用法，尤其係對於靜脈。

**【0047】** 以下列舉可額外存在於乳化劑中之適宜的卵磷脂的未盡臚列清單：磷脂酸，包括 1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸，鈉鹽(DMPA，鈉)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸，鈉鹽(DPPA，鈉)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷脂酸，鈉鹽(DSPA，鈉)；磷酸膽鹼，包括 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DLPC)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DMPC)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DPPC)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(DSPC)；磷酸乙醇胺，包括 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DLPE)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油基-3-磷

酸乙醇胺(DMPE)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DPPE)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DSPE); 磷酸甘油，包括 1,2-二月桂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，鈉鹽(DLPG，鈉)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，鈉鹽(DMPG，鈉)、1,2-二肉荳蔻醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油，鈉鹽(DMP-SN-1-G，NH<sub>4</sub>)、1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，鈉鹽(DPPG，鈉)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，鈉鹽(DSPG，鈉)、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸-sn-1-甘油，鈉鹽(DSP-SN-1G，鈉); 磷酸絲氨酸，包括 1,2-二棕櫚醯基-sn-甘油基-3-磷酸-L-絲氨酸，鈉鹽(DPPS，鈉); 混合鏈磷脂，包括 1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(POPC)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，鈉鹽(POPG，鈉)、1-棕櫚醯基-2-油醯基-sn-甘油基-3-磷酸甘油，銨鹽(POPG，NH<sub>4</sub>); 溶血磷脂，包括 1-棕櫚醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(P-溶血-PC)、1-硬脂醯基-2-溶血-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(S-溶血-PC); 聚乙二醇磷脂，包括 N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 2000)-MPEG-2000-DPPE，鈉鹽、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 5000)-MPEG-5000-DSPE，鈉鹽、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 5000)-MPEG-5000-DPPE，鈉鹽、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 750)-MPEG-750-DSPE，鈉鹽、N-(羰基-甲氧基聚乙二醇 2000)-MPEG-2000-DSPE，鈉鹽。

**【0048】** 於一實施例中，根據組成物的總重量，本發明之乳劑內磷脂的含量在 0.1wt.-%至 30wt.-%。於特定實施例中，可存

在磷脂為 0.5wt.-%至 15wt.-%，包括 0.8wt.-%至 10wt.-%，如 1wt.-%至 5wt.-%。

**【0049】** 於一示範的實施例中，根據乳劑的總重量，本發明之水乳劑內的磷脂含量上限為 10 重量百分比(wt.-%)，較佳為 0.5wt.-%至 5wt.-%。

**【0050】** 於一實施例中，乳劑包括蛋黃卵磷脂，蛋黃卵磷脂包括 60-80%wt/wt，如 67%wt/wt 的磷脂醯膽鹼；10-20%wt/wt，如 15%wt/wt 的磷脂乙醇胺； $\leq 3\%$ wt/wt，如 2%wt/wt 的鞘磷脂；以及 $\leq 3\%$ wt/wt，如 1%wt/wt 的溶血磷脂醯膽鹼。

**【0051】** 「蛋黃卵磷脂 PL90」(Fresenius Kabi AB)係具有如此磷脂含量之蛋黃卵磷脂的例子。

**【0052】** 當乳化劑包括具有特定組成的卵磷脂，則可以達到特定良好的結果，此卵磷脂包括約 80wt.-%至 85wt.-%的磷脂醯膽鹼；約 7.0wt.-%至 9.5wt.-%的磷脂醯乙醇胺；低於 3wt.-%的溶血磷脂醯膽鹼；低於 0.5wt.-%的溶血磷脂醯乙醇胺；以及約 2wt.-%至 3wt.-%的鞘磷脂。

**【0053】** 依照本發明一較佳實施例，乳化劑包括磷脂與糖脂的混合物。出人意外地發現磷脂與糖脂的混合物進一步改良乳劑在較高之溫度(40°C)的儲存穩定度。特別是，即使是在應力條件，例如乳劑的滅菌，這些混合物穩定乳劑。本發明的乳劑通常為滅菌過的，舉例來說在旋轉的高壓釜(autoclave)中以 121°C，壓力 2bar 放置 15 分鐘。

**【0054】** 糖脂係有醣附加在其上的脂質。糖脂的細胞膜為無磷膜脂質，其中一或多種單糖或寡糖連接至脂質。脂質為透過酯鍵連接甘油或透過醯胺鍵連接鞘氨醇的脂肪酸。

**【0055】** 於一較佳實施例中，本發明之乳劑更括糖脂，較佳地選自甘油糖脂，如單半乳糖甘油二酯或鞘髓磷脂或腦苷脂。

**【0056】** 於一較佳實施例中，根據糖脂與磷脂總合的總重量，糖脂的含量為 5wt.-%至 30wt.-%，較佳為 10wt.-%至 28wt.-%。磷脂與糖脂的混合物是市售的，如 Lipoid S 75 ex Lipoid GmbH, 德國。

**【0057】** 於一具體的較佳實施例中乳化劑包括：約 68wt.-%至 73wt.-%的磷脂醯膽鹼、約 7wt.-%至 10wt.-%的磷脂醯乙醇胺、低於 3wt.-%的溶血磷脂醯膽鹼以及約 14wt.-%至 25wt.-%的糖脂，其中所有的重量都是根據糖脂與磷脂總合的總重量。

**【0058】** 乳劑較佳地包括 0.5wt.-%至 5wt.-%，更佳為 1.0wt.-%至 4.0wt.-%的乳化劑，其中此含量係根據乳劑的總重量。

**【0059】** 本發明之乳劑較佳為水中含油乳劑，其中水相係連續相，而油脂相係非連續相。

**【0060】** 如上所述，本發明之水中含油乳劑更包括水相介質 (aqueous medium)。「水相介質」或「水相」指含有水的液體 (water-containing liquid)。於一些實施例中，水相介質係水和/或水相緩衝溶液。

【0061】 根據乳劑的總重量，本發明之水乳劑，較佳為水中含油乳劑可包括 70wt.-%至 98wt.-%，較佳為 70wt.-%至 90wt.-%的水。

【0062】 於一些實施例中，乳劑可包括 0 mM 至 4mM，較佳為 0.5 mM 至 3mM 之生理相容的(physiologically compatible)緩衝劑。

【0063】 於一些實施例中，依照本發明之水乳劑選擇性地包括界面活性劑助劑(co-surfactant)。適用於本發明之乳劑中的界面活性劑助劑防止脂質乳劑的絮凝和/或聚結。示範的界面活性劑助劑包括但不限於膽固醇、油酸、油酸鹽、吐溫 80(聚乙二醇脫水山梨糖醇單油酸酯)、聚乙烯氫化蓖麻油(HCO-60)、Solutol H15(聚氧乙烯-660-羥基硬脂酸酯)、PEG-400(聚乙二醇)、Pluronic F68(BASF)、聚氧乙烯蓖麻油(聚氧乙烯-35-蓖麻油酸)，或膽汁酸的鹽類，如去氧膽酸。於其他實施例中，界面活性劑助劑係選自由 C12-C22 脂肪酸、其鹽類和/或其混合物，如 C16-C20 脂肪酸、其鹽類和/或其混合物，或 C18 脂肪酸、其鹽類和/或其混合物。於具體實施例中，脂肪酸為單元不飽和脂肪酸。

【0064】 於一些實施例中，存在於乳劑中的界面活性劑助劑可以具有大於或等於 0.005%、大於或等於 0.01%或大於或等於 0.02%的含量(wt.-%)。依照任一實施例，界面活性劑助劑可以小於或等於 4%、小於或等於 1%或小於或等於 0.04%的含量(wt.-%)存在。於具體實施例中，界面活性劑助劑係選自由長鏈脂肪酸，

如棕櫚酸、油酸或硬脂酸，或其鹼金屬鹽所組成的群組。油酸鹽和/或油酸，特別是油酸鈉，是特別合適的界面活性劑助劑。

**【0065】** 於特定實施例中，界面活性劑助劑係油酸鹽和/或油酸，界面活性劑助劑可以等於或大於 0.005wt.-%、等於或大於 0.01wt.-%或等於或大於 0.02wt.-%的含量(wt.-%)存在。依照任一實施例，界面活性劑助劑可以小於或等於 0.5wt.-%、小於或等於 0.2wt.-%或小於或等於 0.005wt.-%的含量(wt.-%)存在。於具體的實施例中，界面活性劑助劑係油酸鈉，且以 0.03wt.-%(0.3g/l)的含量存在。在此敘述脂乳劑可適用於非口服的注射，如靜脈注射。於具體的實施例中，因此保持特定界面活性劑助劑的濃度為最小值以防止副作用，如刺激、細胞色素 P450 的抑制等等。於具體的實施例中，Pluronic F68(聚(乙二醇)-13-聚(丙二醇共-丙二醇)係以小於 0.7wt.-%或小於 0.5wt.-%的含量存在。於其它具體的實施例中，Solutol-HS(聚乙二醇-15-羥基硬脂酸)係以小於 1.2wt.-%或小於 1wt.-%的含量存在。

**【0066】** 依照本發明之水中含油乳劑可包括張度劑(tonicity agent)。這類組成物可具有 200-1000 毫滲莫耳/公斤(mOsm/kg)的滲透重量莫耳濃度，較佳為 220 至 800mOsm/kg，尤其是 250 至 600 mOsm/kg。

**【0067】** 依照本發明之具體實施例的乳劑可為等張(isotonic)或等滲(iso-osmotic)。組成物可具有 220-600mOsm/kg 的滲透重量莫耳濃度，或 230-360mOsm/kg。

**【0068】** 適合的張度劑包括鉀或鈉的氯化物、海藻糖、蔗糖、山梨糖醇、甘油、葡萄糖、木糖醇、甘露醇、聚乙二醇、丙二醇、白蛋白、氨基酸及其混合物。於特定實施例中，使用亦增加滲透壓的試劑，如甘油、葡萄糖、乳糖、山梨糖醇或蔗糖來達到 270-330mOsm/kg 的滲透重量莫耳濃度，如 280 至 300mOsm/kg。

**【0069】** 於一實施例中，張度劑係生理學上可接受的多元醇，如甘油、山梨醇或木糖醇。於一具體的實施例中，張度劑係甘油。

**【0070】** 因此，依照本發明之又一方面，乳劑更包括張度劑，較佳為甘油。

**【0071】** 根據乳劑的總重量，張度劑可以 0.1wt.-%至 10wt.-%，較佳為 0.5wt.-%至 8wt.-%，更佳為 1wt.-%至 5wt.-%的含量存在。

**【0072】** 通常張度劑所使用的濃度不會具有不良的生物效應，但是足以提供等滲和/或等張組成物。當甘油為張度劑，甘油可以 2%至 5%(wt.-%)，如 2.1%至 2.9%(wt.-%)，包括 2.3%至 2.7%的含量存在。於具體實施例中，本發明之乳劑包括 2.5%甘油(25g/l)。於又一實施例中，根據乳劑的總重量，張度劑以 2.5wt.-%或更多的含量存在。

**【0073】** 於一些實施例中，依照本發明之乳劑具有 pH6.0 至 pH9.0 的 pH，如 pH6.5 至 pH8.5，包括 pH7.5 至 pH8.5，如 8.0 至 8.5。於一替代的實施例中，pH 可以為 5.0 至 9.0。可藉由本領域已知的方法調整組成物的 pH，例如透過使用適當的鹼來中和脂肪酸上的負電荷、透過使用適當的緩衝溶液或其組成物。各種鹼以

及緩衝溶液適用於本發明之乳劑。本領域技術人員將會理解加入至乳劑中的緩衝溶液不僅會影響最終的 pH，也會影響乳劑的離子強度。高離子強度的緩衝溶液可負面地影響乳劑的界面電位(zeta potential)，並且因此不可取。於一具體的實施例中，藉由加入氫氧化鈉，如 0.1N 氫氧化鈉或 1N 氫氧化鈉以調整 pH 至所欲的數值。為了在氧化過程中更加穩定本發明之乳劑，可存在抗氧化劑。於一較佳的實施例中，乳劑更包括抗氧化劑，較佳為  $\alpha$ -生育酚(alpha-tocopherol)。

**【0074】** 依照本發明之乳劑選擇性地包括一或多種藥學上可接受的添加物，如酸化劑、鹼化劑、結合劑、螯合劑、絡合劑、增溶劑、防腐劑、防腐劑（包括抗微生物劑和抗氧化劑）、助懸劑、穩定劑、潤濕劑、黏度調節劑、溶劑、冷凍保護劑、稀釋劑、潤滑劑和其它生物相容性材料或治療劑。於特定的實施例中，這類添加物協助更加穩定乳劑或協助本發明之乳劑表現出生物相容性。

**【0075】** 依照本發明之一較佳實施例，在 25°C 油脂相的密度，特別是由較佳為 MCT 的三酸甘油酯 b) 以及半氟化化合物所組成的混合物的密度在 0.9 至 1.1 公克/立方公分( $\text{g}/\text{cm}^3$ )之間，更佳為 0.95 至 1.05  $\text{g}/\text{cm}^3$  之間或約 0.95 至約 1.10  $\text{g}/\text{cm}^3$ 。於本發明又一方面，油脂相的密度偏離水相的密度不大於 10%，較佳為不大於 5%，尤其是不大於 3%。水相包括在連續相中的所有成分，而油脂相包括在非連續相中的所有成分。

**【0076】** 已發現使用具有奈米範圍之油滴的乳劑可以達到好的診斷結果。依照本發明較佳的一方面，使用光子相關法(Photon Correlation Spectroscopy, PCS)在 25°C 測量，非連續相中的粒子具有較佳的平均粒子直徑從 1 至 500 奈米，更佳為 10 至 400 奈米且進一步優選為 50 至 350 奈米。

**【0077】** 本發明又一實施例使用本發明之乳劑做為藥劑。

**【0078】** 已發現存在於本發明之乳劑中的半氟化化合物藉由單核細胞/巨噬細胞採取這樣一種方式，使得細胞變的明確地標定，可以用於造影方法之診斷。出人意外地，發現對於發炎過程之可視化的診斷潛力，特別是心血管系統以及淋巴結的發炎過程。

**【0079】** 因此，本發明之乳劑適合用作對比劑或對比增強劑。乳劑特別適用於核磁共振造影技術，因為提過的乳劑中的半氟化化合物明確地增加並分配於發炎的組織中。

**【0080】** 本發明之另一方面為將本發明的乳劑作為對比增強劑或對比劑來藉由核磁共振造影技術之造影過程診斷檢測。

**【0081】** 本發明之又一實施例將本發明的乳劑作為對比劑來藉由造影過程診斷檢測，特別是造影過程係基於測量  $^{19}\text{F}$  同位素之核磁共振。

**【0082】** 本領域技術人員已知相關測量的評估以及轉換其至圖像，例如可以從下列文件看出：

**【0083】** Haacke M E, Brown W R, Thompson M R, Venkasetan R: 核磁共振造影-物理原理和序列設計(Magnetic

Resonance Imaging-Physical Principles and Sequence Design),  
Wiley, New York, 1999;

【0084】 Yu J X, Kodibagkar V D, Cui W, Mason R P. 19F:使用核磁共振於非侵入性生理與藥理的多方面報導(a versatile reporter for non-invasive physiology and pharmacology using magnetic resonance); *Curr Med Chem.* 12: 819-48, 2005 ;

【0085】 Wernick M N, Aarsvold J N 發射斷層掃描：正子造影(Positron Emission Tomography, PET)和單光子放射斷層掃描(Single-Photon Emission Computed Tomography, SPECT)的基本原理(Emission Tomography: The Fundamentals of PET and SPECT), Academic Press, London, 2004 。

【0086】 乳劑特別適用於檢測發炎過程。依照本發明又一方面，本發明之乳劑，藉由一造影過程之手段來診斷檢測，發炎過程選自由附加梗塞的發炎反應，如心肌梗塞(myocardial infarction)、中風(stroke)；器官的發炎，如心肌炎(myocarditis)、腦炎(encephalitis)、腦膜炎(meningitis)；多發性硬化症(multiple sclerosis)；胃腸道的發炎，如克隆氏症(Crohn's disease)；血管的發炎，如動脈硬化(arteriosclerosis)，尤其是易損斑塊(vulnerable plaques)；膿腫(abscesses)以及關節炎(arthritis)的檢測，其中造影過程係基於測量  $^{19}\text{F}$  同位素的核磁共振。

【0087】 本發明之另一方面，乳劑基於心血管系統(cardio-vascular system)的非侵入性造影過程來診斷檢測，心血管

系統包括心肌(myocardium)、動脈(arteries)以及靜脈(veins)；發炎反應發生於疾病過程，如心肌梗塞、心肌炎、動脈粥狀硬化(atherosclerosis)以及血栓症(thrombosis)，導致發現於神經學中的脈管之發炎以及退化過程，如中風或腫瘤；肺學(pulmology)，如血栓症、發炎、類肉瘤病(sarcoidosis)；腸胃病學(gastroenterology)，如腫瘤、發炎性腸道疾病(inflammatory bowel diseases)，如克隆氏症；以及風濕病(rheumatology)，如血管的自體免疫性疾病(autoimmune diseases)，如高安氏動脈炎(Takayasu arteritis)。

**【0088】** 本發明又一實施例提及一種方法包括取得患者的非侵入性之造影過程，事先已對患者施用本發明之乳劑，以溶解乳劑於患者的血液中。

**【0089】** 較佳地，非侵入性造影過程為核磁共振造影過程。

**【0090】** 本發明之方法的又一較佳方面中，造影過程係基於測量  $^{19}\text{F}$  同位素或  $^{19}\text{F}$  同位素以及  $^1\text{H}$  同位素的核磁共振。

**【0091】** 半氟化化合物中  $^{19}\text{F}$  同位素和/或  $^{18}\text{F}$  同位素的存在允許使用已知的裝置以及已存在於醫院中的裝置之優點，即使用  $^{19}\text{F}$  同位素之核磁共振光譜法和/或使用  $^{18}\text{F}$  同位素之正電子放射光譜法(positron emission spectroscopy)。

**【0092】** 藉由使用依照本發明之乳劑可以特別地檢測下列病理狀態：

1)淋巴結的可視化以及它們的病理性腫大

a) 直接地影響淋巴結的癌症：何杰金氏病(Hodgkin's disease)、

非何杰金氏淋巴瘤

b) 腫瘤轉移，舉例來說，從乳腺癌

c) 病毒和細菌感染，舉例來說，梅毒、結核病；

2) 邊緣帶(border zone)的發炎反應

a) 梗塞，舉例來說，心肌梗塞、中風；

b) 腫瘤；

3) 器官的發炎：心肌炎，腦炎，腦膜炎（腦和脊髓脊膜）；

4) 多發性硬化症；

5) 胃腸道的發炎，舉例來說，克隆氏症；

6) 血管的發炎，舉例來說，動脈硬化，尤其是所謂的「易損斑塊」；

7) 膿腫的檢測；

8) 關節炎的檢測。

**【0093】** 通常在造影過程開始之前非口服的施用本發明之乳劑。於一較佳實施例中，靜脈地或關節內地施用乳劑。

**【0094】** 本發明又一方面為一種用於檢測發炎過程的方法，包括：

(a) 施用本發明之乳劑至需要其的位置；以及

(b) 造影含氟的化合物於前述位置，其中前述的發炎過程較佳地選自由直接地影響淋巴結的癌症、梗塞或腫瘤之邊緣帶的發炎過程、器官的發炎、多發性硬化症、胃腸道的發炎、血管的發炎、膿腫以及關節炎所組成的群組。

**【0095】** 本發明之又一實施例為一種製造本發明之乳劑的方法，包括下列步驟：

i)提供混合物，包括；

a)半氟化化合物，如化學式 I 所示：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數，

b)一三酸甘油酯，在 20°C 與半氟化化合物互溶，較佳為中鏈三酸甘油酯(MCT)

c)一乳化劑；以及

d)水；

ii)均勻化混合物，較佳地在高壓均質機中均勻化此混合物；

iii)選擇性地滅菌乳劑。

**【0096】** 另一方面，此製造方法包括下列步驟：

i) 溶解半氟化化合物於較佳為中鏈三酸甘油酯的三酸甘油酯 b)內

ii) 乳化油脂相於水相內，較佳在有乳化劑存在下。

**【0097】** 依照一具體的實施例，在結合前述水相組成物與油脂的組合物之前，均勻化水相組成物以產生同質的懸浮液。

**【0098】** 於一具體的實施例中，在大於或等於 350bar，或大於或等於 370bar 實施均勻化。

**【0099】** 於具體的實施例中，乳劑的製造方法包括下列步驟：溶解乳化劑於水相介質中(而不是油脂相中)，加入油脂相至水相

(不是反之亦然)，以及在大於或等於 350bar 均勻化，這些步驟造成具有粒子尺寸與乳劑穩定度之優良性質的乳劑。

**【0100】** 於另一具體實施例中，封裝乳劑於密封的容器中，並且滅菌，如藉由加熱到至少 121°C(例如 121°C 至 123°C)且持續最少 15 分鐘。高壓釜程序可為旋轉週期(rotary cycle)。

**【0101】** 本發明又一實施例為容納本發明之乳劑的容器。此容器的材料較佳為選自由玻璃和有機聚合物及其混合物所組成的群組。較佳的有機聚合物為聚乙烯和/或聚丙烯。

**【0102】** 於本發明之製造方法的一較佳實施例中，前述方法包括下列步驟：

a)製備混合物，藉由：

a-1)製備混合物，包括水以及乳化劑，

a-2)製備同質的混合物，混合物包括半氟化化合物以及三酸甘油酯，

a-3)結合步驟 a-1)中所得到的混合物以及步驟 a-2)中所得到的混合物；以及

b)均勻化步驟 a)中所得到的混合物，較佳地用高壓均質機均勻化步驟 a)中所得到的混合物。

**【0103】** 尤其是，於本發明之製造乳劑方法的一較佳實施例中，前述方法包括下列步驟：

a)製備混合物，藉由：

a-1)製備混合物，包括乳劑的水溶性成分，較佳為包括

水、乳化劑以及張度劑的混合物，特別是包括水、磷脂、油酸鈉以及甘油的混合物。

a-2)製備乳劑之脂溶性成分的同質的混合物，較佳為包括半氟化化合物、三酸甘油酯以及抗氧化劑的混合物，更佳為包括 F6H8、MCT 以及  $\alpha$ -生育酚的混合物。

a-3)結合步驟 a-1)中所得到的混合物以及步驟 a-2)中所得到的混合物；以及

b)均勻化步驟 a)中所得到的混合物以製備預乳劑；

c)進一步藉由高壓均質機均勻化步驟 a)中所得到的混合物。

**【0104】** 出人意外地發現藉由於較佳的 30°C 至 70°C 之間的溫度，更佳為 40°C 至 60°C 均質化步驟 a)以及步驟 b)中的乳劑可以得到最佳的結果。

**【0105】** 於又一較佳的製造方法之實施例中，施加滅菌乳劑的步驟 d)，較佳地藉由加熱到至少 121°C 並持續至少 15 分鐘。

**【0106】** 結合本發明之乳劑議論乳劑之較佳的量以及成分。

**【0107】** 本發明之又一方面為一種運作磁振斷層掃描儀的方法。此方法中發射交變磁場(alternating magnetic field)並且藉由待檢查的一樣品來檢測已發射之磁場的吸收。此方法步驟對應磁振斷層掃描儀的一般運作。發明的方法用以檢測如化學式 I 所示的半氟化化合物：



於本發明乳劑中，x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數。

**【0108】** 發明的方法之特徵在於交變磁場的頻率係在  $B \times 40.045600\text{MHz/T}$  以及  $H \times 40.065600\text{MHz/T}$  之間， $B$  係磁場強度，單位為特斯拉(Tesla, T)。

**【0109】** 為了得到交變磁場之上述的頻率，實施下列的方法步驟：

首先，選擇交變磁場的頻率為  $B \times 40.05560\text{MHz/T}$ 。為了檢測包含氟原子的未知化合物，使用寬的激發以及接收頻寬(例如  $\pm 5\text{kHz}$ )。激發帶的中間為氟原子核( $40.05560\text{MHz/T}$ )的激發頻率。定義此頻率為零位(zero position)。

含氟的未知化合物之特徵光譜的激發出現在特定的偏移頻率(offset frequency)。如果不是這樣的例子，那麼需要加寬已選擇的頻寬(例如  $\pm 5\text{kHz}$ )。

在特定頻率發現特定光譜之後，藉由選擇適當的偏移頻率來偏移此激發光譜。發明人已發現適當的偏移頻率為  $\pm 100\text{Hz}$  至  $\pm 10000\text{Hz}$ 。藉由選擇這樣的頻率可以顯著地降低激發以及接收頻寬，因此獲得雜訊的降低，如此一來可以獲得較佳的訊雜比。

**【0110】** 本發明之又一方面係有關於一種檢測待檢查樣品的方法，半氟化化合物如化學式 I 所示：



於本發明乳劑中， $x$  係 1 至 8 的整數， $y$  係 2 至 10 的整數。此方法中發射交變磁場並且藉由待檢查的樣品來檢測已發射之磁場的吸收。此方法步驟對應磁振斷層掃描儀的一般運作。

【0111】 依照本發明，疊加至少一  $^{19}\text{F}$ -氟質子圖像與一  $^1\text{H}$  質子圖像，顯示  $^1\text{H}$  質子圖像的質子為一灰階影像，而藉由使用色彩漸層顯示  $^{19}\text{F}$ -氟質子圖像的質子，色彩漸層的一端指示  $^{19}\text{F}$  的低濃度，而色彩漸層的另一端指示  $^{19}\text{F}$  的高濃度。

【0112】 可以施加這些方法步驟，舉例來說用來指認(assign)已檢測的氟訊號至患者身體的特定部位。為此目的，有可能插入  $^{19}\text{F}$ -量度( $^{19}\text{F}$ -volume)與  $^1\text{H}$ -量度( $^1\text{H}$ - volume)以獲得較佳的解析度。如同已解釋過的，顯示  $^1\text{H}$  質子圖像為灰階影像，而可以顯示  $^{19}\text{F}$ -氟質子圖像，舉例來說為從黑到綠改變的或從藍到紅改變的色彩漸層。

【0113】 首先，產生三維的動態影像。然而，較佳為接連地產生各層的二維影像，各個二維影像顯示待檢查樣品的一剖面。較佳為計算最大強度投影影像(maximum intensity projections, MIP's)。這些二維的層影像顯示對比劑以全盤的方式存在於解剖學上的結構。

【0114】 於本發明一較佳實施例中，消除非待檢查之第二樣品中由  $^{19}\text{F}$ -氟質子所產生的干擾訊號。舉例來說，這類干擾訊號可以藉由在患者之肝臟或脾臟內的對比劑所產生。在嘗試檢測例如患者心臟區域之發炎的造影過程中，因為肝臟的位置非常靠近心臟，肝臟內的對比劑可以造成非常強的干擾訊號。

【0115】 為了消除這類干擾信號，有可能比較一第一像素中的氟濃度數值與在三維空間中圍繞第一像素的所有像素的數值。

因此，若兩相鄰像素之氟濃度數值之間的差異低於閾值，則視兩像素為屬於像素的群集(cluster)，例如屬於患者的肝臟。若此群集不代表待檢查的樣品(於此例中為患者的心臟)，則可以從獲得的影像中移除像素的干擾群集。舉例來說，可以手動地實施此干擾群集的移除。

**【0116】** 當疊加  $^{19}\text{F}$  氟圖像與  $^1\text{H}$  質子圖像時，較佳為已獲得這些影像且並無改變測量幾何(measuring geometry)，表示包含訊號的兩組數據來自相同的量度。

**【0117】** 可以藉由平均不同的收取(acquisitions)來抑制可存在於  $^{19}\text{F}$  氟質子圖像中的雜訊。測量雜訊的標準差  $\sigma$ ，對於將檢測的訊號可以使用  $3 \cdot \sigma$  或  $5 \cdot \sigma$  做為閾值。這表示僅有大於雜訊之標準差 3 倍的訊號被視為「真正的」訊號。使用者可以改寫此閾值，使得獲得的圖像有可能改寫至雜訊的量。較佳地，不施加前述之最後的方法於  $^1\text{H}$  質子圖像，因為  $^1\text{H}$  質子圖像具有較高的訊雜比(Signal to Noise Ratio, SNR)。

**【0118】** 最後提到的本發明之內容中已討論的所有方法步驟基本上是有關於訊號處理步驟，因此可以獨立於數據收取過程，在任何時間與任何地點實施。特別是，實施這些方法步驟不需要患者之身體的存在。

**【0119】** 會同本發明之乳劑敘述使用於本發明之方法的較佳實施例中的乳劑。

**【0120】** 下文中，將藉由範例來進一步說明本發明：

## 範例部分

## 範例 1-3

**【0121】** 範例部分之乳劑的製備通常如下：

- 1) 混合乳化劑與水
- 2) 製備疏水性成分如 MCT、含氟化合物(fluorinated compound)以及選擇性地  $\alpha$ -生育酚的混合物。
- 3) 加入來自步驟 1)的水相混合物至步驟 2)的油脂混合物。
- 4) 於 Panda® Plus 2000 高壓均質機中，在 700bar 使用高壓均質機 3 次並且在 1000bar 使用高壓均質機 2 次來均勻化乳劑。

**【0122】** 表 1 顯示水中含油乳劑組合物中，而表 2 顯示 20°C 時的相對儲存穩定度數據。此表中的數量指根據乳劑之總重量的重量百分比(wt.-%)。

**【0123】** 表 1：依照本發明之範例 1 至 3 以及比較例 9 的水中含油乳劑組合物

| 成分                        | 範例 1   | 範例 2   | 範例 3   | 比較例 9  |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|
| F6H8 <sup>1)</sup>        | 4      | 6      | 8      | 20     |
| MCT <sup>2)</sup>         | 16     | 14     | 12     | ----   |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2      | 2      | 2      | 2      |
| 水                         | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 |

<sup>1)</sup> 全氟己基正辛烷，例如 Novaliq, 德國

<sup>2)</sup> 中鏈三酸甘油酯(50wt.-%至 80wt.-%的 C<sub>8</sub>-脂肪酸以及 20wt.-%至 50 wt.-% 的 C<sub>10</sub>-脂肪酸)

3) 蛋黃卵磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國

【0124】 表 2：依照範例 1 至 3 之乳劑的儲存穩定度數據

| 範例 | 儲存時間<br>[天數] | 平均粒子直徑<br>(ZAverage)<br>[奈米] | 多分佈<br>指數<br>(P.I.) | pH   |
|----|--------------|------------------------------|---------------------|------|
| 1  | 0            | 148,3                        | 0,073               | 8,09 |
|    | 7            | 158,1                        | 0,093               | 6,61 |
|    | 14           | 169,2                        | 0,098               | 6,12 |
|    | 28           | 173,9                        | 0,098               | 5,83 |
| 2  | 0            | 166,1                        | 0,054               | 8,10 |
|    | 7            | 173,6                        | 0,075               | 6,59 |
|    | 14           | 184,2                        | 0,061               | 6,19 |
|    | 28           | 185,0                        | 0,069               | 5,96 |
| 3  | 0            | 155,7                        | 0,075               | 8,11 |
|    | 7            | 167,7                        | 0,065               | 6,62 |
|    | 14           | 176,7                        | 0,068               | 6,08 |
|    | 28           | 178,5                        | 0,090               | 5,98 |

藉由光子相關法決定平均粒子直徑 (Average particle diameter, ZAverage) 以及多分佈指數 (Polydispersity Index, P.I.)。

【0125】 第 1 圖繪示表 2 中所反映的儲存穩定度之數據，以及關於比較例 9 的數據。

【0126】 第 1A 圖繪示依照範例 1 至 3 以及比較例 9 之乳劑的粒子成長。在乳劑的製造之後立即開始粒子成長的測量。

【0127】 第 1A 圖繪示對於範例 1，油滴的平均粒子直徑在 28 天內約增加 11%，對於範例 2 約增加 15%，對於範例 3 約增加 17% 以及對於比較例 9 約增加 23%。當半氟化化合物的濃度較高，粒子成長增加的越多。

【0128】 第 1B 圖繪示粒子成長增加於半氟化化合物 F6H8 之

濃度的依存關係。

【0129】 表 2A 反映第 1、1A、1B 圖中所示之數據。儲存測試在 20°C 進行。

表 2A

| 範例    | 儲存時間<br>[天數] | 平均粒子直徑<br>(ZAverage)<br>[奈米] | 多分佈<br>指數<br>(P.I.) | 絕對粒子<br>成長增加<br>[奈米] | 相對粒子成<br>長增加<br>[%] |
|-------|--------------|------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| 1     | 0            | 148,3                        | 0,073               | 0,0                  | 0,0                 |
|       | 7            | 158,1                        | 0,093               | 7,5                  | 4,5                 |
|       | 14           | 169,2                        | 0,098               | 18,1                 | 10,9                |
|       | 28           | 173,9                        | 0,098               | 18,9                 | 11,4                |
| 2     | 0            | 166,1                        | 0,054               | 0,0                  | 0,0                 |
|       | 7            | 173,6                        | 0,075               | 12,0                 | 7,7                 |
|       | 14           | 184,2                        | 0,061               | 21,0                 | 13,5                |
|       | 28           | 185,0                        | 0,069               | 22,8                 | 14,6                |
| 3     | 0            | 155,7                        | 0,075               | 0,0                  | 0,0                 |
|       | 7            | 167,7                        | 0,065               | 9,8                  | 6,6                 |
|       | 14           | 176,7                        | 0,068               | 10,9                 | 14,1                |
|       | 28           | 178,5                        | 0,090               | 25,6                 | 17,3                |
| 比較例 9 | 0            | 132,4                        | 0,181               | 0,0                  | 0,0                 |
|       | 7            | 154,1                        | 0,183               | 21,7                 | 16,4                |
|       | 14           | 156,2                        | 0,187               | 23,8                 | 18,0                |
|       | 28           | 163,4                        | 0,177               | 31,0                 | 23,4                |

【0130】 已發現若油滴(MCT 以及半氟化化合物)的密度大約與水相的密度相同，可以達到半氟化化合物(必須在磁振測量中達到好的對比)之高濃度的最佳平衡以及儲存穩定的乳劑。藉由改變油脂相的密度至水相的密度，可以減少使乳劑不穩定的水相聚結現象以及沉降現象。

【0131】 第 1C 圖繪示 MCT 與 F6H8 之不同的混合物的密度

測量結果。

**【0132】** 在約 38.5wt.-%的 F6H8 以及約 61.5wt.-%的 MCT，(基於油脂相的總重量)油脂混合物的密度對應於水相的密度。

比較例 1 至 8、9A 以及 10 至 12

**【0133】** 對於核磁共振光譜法，全氟溴辛烷(PFOB)為已知的對比劑。已發現 PFOB 不能溶解於 MCT 中。因此，已製備乳劑，其中藉由可以溶解於 PFOB 中的全氟溴癸烷(perfluorodecylbromide, PFDB)來穩定 PFOB。

**【0134】** 表 3 以及表 4 顯示比較例 1 至 8、9A 以及 10 至 12 的水中含油乳劑組成物，表 6 顯示 20°C 時的個別儲存穩定度數據。表 2 以及表 4 中的數量指根據乳劑之總重量的重量百分比 (wt.-%)。

表 3：比較例 1 至 4

| 成分                        | 比較例 1  | 比較例 2  | 比較例 3  | 比較例 4  |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|
| PFOB <sup>1)</sup>        | 20     | 20     | 20     | 20     |
| PFDB <sup>2)</sup>        | 0.2    | 1      | 2      | 4      |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2      | 2      | 2      | 2      |
| 水                         | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 |

<sup>1)</sup> 全氟溴辛烷，例如 ABCR GmbH & Co. KG, 德國

<sup>2)</sup> 全氟溴癸烷，例如 ABCR GmbH & Co. KG, 德國

<sup>3)</sup> 蛋黃卵磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國

**【0135】** 表 4：比較例 5 至 8

| 成分 | 比較例 5 | 比較例 6 | 比較例 7 | 比較例 8 |
|----|-------|-------|-------|-------|
|----|-------|-------|-------|-------|

|                             |        |        |        |        |
|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|
| PFOB <sup>1)</sup>          | 20     | 20     | 20     | 20     |
| PFDB <sup>2)</sup>          | 0.2    | 1      | 2      | 4      |
| Lipoid S PC-3 <sup>3)</sup> | 2      | 2      | 2      | 2      |
| 水                           | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 |

<sup>1)</sup> 全氟溴辛烷

<sup>2)</sup> 全氟溴癸烷

<sup>3)</sup> 磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國

**【0136】** 表 5：比較例 9A 以及 10 至 12

|                           |        |        |        |        |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|
| 成分                        | 比較例 9A | 比較例 10 | 比較例 11 | 比較例 12 |
| PFOB <sup>1)</sup>        | 20     | 20     | 20     | 20     |
| PFDB <sup>2)</sup>        | 0.2    | 1      | 2      | 4      |
| Lipoid S 75 <sup>3)</sup> | 2      | 2      | 2      | 2      |
| 水                         | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 |

<sup>1)</sup> 全氟溴辛烷，例如 ABCR GmbH & Co. KG, 德國

<sup>2)</sup> 全氟溴癸烷，例如 ABCR GmbH & Co. KG, 德國

<sup>3)</sup> 大豆磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國

**【0137】** 表 6：依照比較例 1 至 8、9A 以及 10 至 12 之乳劑的儲存穩定度數據

| 比較例 | 儲存時間<br>[天數] | 平均粒子直<br>徑<br>(ZAverage)<br>[奈米] | 多分佈<br>指數<br>(P.I). | pH   |
|-----|--------------|----------------------------------|---------------------|------|
| 1   | 0            | 168,5                            | 0,128               | 6,93 |
|     | 7            | 314,3                            | 0,197               | 5,59 |
|     | 14           | 310,0                            | 0,217               | 5,14 |
|     | 28           | 316,5                            | 0,242               | 4,52 |
| 2   | 0            | 119,7                            | 0,187               | 6,75 |
|     | 7            | 270,8                            | 0,150               | 5,55 |

|    |    |       |       |      |
|----|----|-------|-------|------|
|    | 14 | 278,4 | 0,221 | 5,35 |
|    | 28 | 267,6 | 0,187 | 5,32 |
| 3  | 0  | 157,7 | 0,155 | 7,11 |
|    | 7  | 249,0 | 0,156 | 5,85 |
|    | 14 | 263,7 | 0,153 | 5,53 |
|    | 28 | 178,4 | 0,061 | 5,74 |
| 4  | 0  | 157,5 | 0,193 | 6,99 |
|    | 7  | 244,7 | 0,121 | 6,01 |
|    | 14 | 267,5 | 0,120 | 5,71 |
|    | 28 | 259,2 | 0,154 | 5,55 |
| 5  | 0  | 141,5 | 0,222 | 7,25 |
|    | 7  | 318,8 | 0,160 | 6,47 |
|    | 14 | 377,9 | 0,250 | 6,40 |
|    | 28 | 485,8 | 0,358 | 6,04 |
| 6  | 0  | 130,1 | 0,282 | 7,27 |
|    | 7  | 290,5 | 0,134 | 6,98 |
|    | 14 | 444,3 | 0,224 | 6,62 |
|    | 28 | 365,5 | 0,257 | 6,73 |
| 7  | 0  | 146,7 | 0,184 | 7,75 |
|    | 7  | 269,0 | 0,171 | 6,96 |
|    | 14 | 289,8 | 0,160 | 5,83 |
|    | 28 | 315,4 | 0,156 | 6,56 |
| 8  | 0  | 141,9 | 0,217 | 7,58 |
|    | 7  | 230,8 | 0,129 | 6,68 |
|    | 14 | 253,0 | 0,117 | 6,69 |
|    | 28 | 346,6 | 0,133 | 5,90 |
| 9A | 0  | 170,1 | 0,117 | 7,29 |
|    | 7  | 272,8 | 0,114 | 6,38 |
|    | 14 | 283,2 | 0,121 | 5,79 |
|    | 28 | 249,6 | 0,071 | 5,23 |
| 10 | 0  | 152,4 | 0,137 | 7,18 |
|    | 7  | 241,8 | 0,094 | 5,96 |
|    | 14 | 233,5 | 0,100 | 5,59 |
|    | 28 | 243,3 | 0,092 | 5,29 |
| 11 | 0  | 165,5 | 0,128 | 7,18 |
|    | 7  | 217,5 | 0,115 | 6,04 |
|    | 14 | 224,1 | 0,136 | 6,03 |
|    | 28 | 224,8 | 0,096 | 5,66 |
| 12 | 0  | 144,9 | 0,135 | 7,24 |
|    | 7  | 207,0 | 0,127 | 5,78 |
|    | 14 | 212,4 | 0,092 | 5,97 |

|  |    |       |       |      |
|--|----|-------|-------|------|
|  | 28 | 208,9 | 0,107 | 5,71 |
|--|----|-------|-------|------|

【0138】 第 2 圖繪示表 6 中反映的儲存穩定度測試。第 2 圖中的左側部分繪示依照比較例 1 至 4 之乳劑的數據，而右側部分繪示依照比較例 5 至 8 之乳劑的數據。

【0139】 從表 6 以及第 2 圖可以看出比較例 1 至 8、9A 以及 10 至 12 顯示在 28 天的儲存時間中平均粒子尺寸的顯著增加。

【0140】 對比之下，依照本發明之範例 1 至 3 的乳劑更是穩定儲存。在 28 天的儲存時間內，乳劑之平均粒子尺寸僅有些微的增加可以被觀察到(第 1 圖以及表 2)。

#### 【0141】 不同乳化劑的測試

【0142】 出人意外地發現可以藉由乳化劑的選擇進一步穩定本發明之乳劑。

【0143】 乳化劑 Lipid S PC-3 被認為較不適合(第 2 圖)，並且沒有進一步測試於本發明之乳劑。

【0144】 表 7 顯示依照範例 4 以及 5 之本發明的乳劑

【0145】 表 7：依照範例 4 以及 5 之水中含油乳劑組成物

| 成分                        | 範例 4   | 範例 5   |
|---------------------------|--------|--------|
| F6H8 <sup>1)</sup>        | 8      | 8      |
| MCT <sup>2)</sup>         | 12     | 12     |
| Lipoid E 80 <sup>3)</sup> | 2      | -----  |
| Lipoid S 75 <sup>4)</sup> | -----  | 2      |
| 油酸鈉                       | 0.03   | 0.03   |
| α-生育酚                     | 0.02   | 0.02   |
| 水                         | Ad 100 | Ad 100 |

- 1) 全氟己基辛烷(Perfluorhexyloctane)，例如 Novaliq, 德國
- 2) 中鏈三酸甘油酯(50wt.-%至 80wt.-%的 C<sub>8</sub>-脂肪酸以及 20wt.-%至 50 wt.-% 的 C<sub>10</sub>-脂肪酸)
- 3) 蛋黃卵磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國
- 4) 磷脂，如 Lipoid GmbH, 德國(具有 14wt.-%至 25wt.-%之糖脂的大豆磷脂)

**【0146】** 進一步分析滅菌的條件是否會影響依照範例 4 以及 5 之乳劑的穩定度。比較於旋轉高壓釜中滅菌過的乳劑與未經滅菌的乳劑(滅菌條件：加熱至 121°C 持續 15 分鐘於 2bar)

**【0147】** 表 8 顯示未經滅菌以及滅菌後之依照範例 4 以及 5 之乳劑的穩定度數據。

**【0148】** 表 8：未經滅菌以及已滅菌之本發明範例 4 以及 5 的穩定度數據

| 範例 | 已滅菌/未經滅菌 | 儲存時間<br>[天數] | 平均粒子直徑<br>(ZAverage)<br>[奈米] | 多分佈指數<br>(P.I). | pH   |
|----|----------|--------------|------------------------------|-----------------|------|
| 4  | 未經滅菌     | 0            | 156,5                        | 0,082           | 8,13 |
|    |          | 7            | 170,5                        | 0,108           | 5,84 |
|    |          | 14           | 176,6                        | 0,086           | 5,68 |
|    |          | 28           | 194,9                        | 0,043           | 5,00 |
|    | 已滅菌      | 0            | 156,5                        | 0,082           | 8,13 |
|    |          | 7            | 263,2                        | 0,028           | 7,15 |
|    |          | 14           | 264,9                        | 0,072           | 7,12 |
|    |          | 28           | 260,8                        | 0,040           | 7,07 |
| 5  | 未經滅菌     | 0            | 170,6                        | 0,102           | 8,00 |
|    |          | 7            | 176,9                        | 0,080           | 6,40 |
|    |          | 14           | 177,7                        | 0,075           | 5,12 |
|    |          | 28           | 167,0                        | 0,067           | 4,07 |

|     |    |       |       |      |
|-----|----|-------|-------|------|
| 已滅菌 | 0  | 170,6 | 0,102 | 8,00 |
|     | 7  | 177,0 | 0,059 | 8,09 |
|     | 14 | 178,9 | 0,095 | 8,00 |
|     | 28 | 175,4 | 0,086 | 7,93 |

【0149】 第 3 圖繪示表 8 中反映的儲存穩定度測試之數據。

第 3 圖中的左側部分繪示依照範例 4 之乳劑的數據，而右側部分繪示依照範例 5 之乳劑的數據。

【0150】 第 3 圖以及表 8 顯示依照範例 5 之乳劑較範例 4 之乳劑穩定。在旋轉高壓釜中滅菌之後，依照範例 5 之乳劑亦較穩定。

【0151】 進一步在 40°C 儲存範例 4 以及範例 5 之乳劑 168 天。出人意外的發現範例 5 之乳劑即使在 40°C 的儲存溫度也沒有顯著地改變物理穩定度(第 4 圖)。

【0152】 第 4 圖繪示依照範例 5 之乳劑的 3 種樣品的測試結果。

【0153】 第 3A 圖繪示依照範例 4 之乳劑的 3 種樣品的測試結果。

【0154】 本發明之範例 6：

【0155】 表 9：依照範例 6 之乳劑組成物

| 成分            | 範例 6 |
|---------------|------|
| F6H8          | 8    |
| MCT           | 12   |
| Lipoid S 75   | 2    |
| $\alpha$ -生育酚 | 0.02 |
| 甘油            | 2.5  |

|      |           |
|------|-----------|
| 油酸鈉  | 0.03      |
| 氫氧化鈉 | Ad pH 8.2 |
| 水    | Ad 100    |

**【0156】** 藉由在 50°C 製備 F6H8、MCT 以及  $\alpha$ -生育酚之同質的混合物來製備依照範例 6 之乳劑。另外，混合乳化劑 Lipoid S 75、輔助乳化劑(co-emulsifier)油酸鈉、甘油以及水之混合物於轉子/定子混合裝置(Ultra turrax)中，在 50°C 以及 15000rpm 持續 20 分鐘。接著，加入包括 MCT、F6H8 以及  $\alpha$ -生育酚之混合物至水相混合物，並且使用 Ultra turrax(型號 T 25 例如 IKA) 在 50°C 以及 20000rpm 持續 20 分鐘均勻化。得到的預乳劑接著進一步於高壓均質機(APV 型號 1000/2000)中均勻化[在 500bar 進行 5 個循環並且接著在 60bar]。

**【0157】** 獲得的乳劑接著在高壓釜中用溫度 121°C 持續 15 分鐘來滅菌。

**【0158】** 出人意外的發現範例 6 之乳劑即使在 3 個月後 40°C 的儲存溫度也沒有顯著地改變物理穩定度，即便是在 3 個月後(第 4A 圖)。

**【0159】** 第 4A 圖繪示依照範例 6 之乳劑的測試結果。

**【0160】** 使用範例 6 之乳劑於或體內核磁共振造影(MRI)測量。

**【0161】** 為了檢查藉由 MRI 以及目標組織中的檢測是否可使活體內之 F6H8/MCT 乳劑被可視化，實施第一藥物動力學檢

查。

**【0162】** 第 5 圖以示範的方式繪示血池效應(Blood pool effects)。

**【0163】** 第 5 圖繪示在心臟內的依照本發明之乳劑 6，心臟在血池中做為目標組織。解剖學上的 T2 TSE 之示範的三維重建以及彩色的三維  $^{19}\text{F}$  序列通常重建於做為總資料組之來自老鼠的一組資料組(A)，並且計算(B)移除的肝臟。以下顯示完整的三維資料組(C)以及心臟的放大細節圖(D)。

**【0164】** 因此，顯示依照本發明之乳劑可以在活體內的心肌中可視化。再者，檢查 MRI 中梗塞的表現。這些結果顯示在下列第 6 圖中。

**【0165】** 第 6 圖顯示：(A)在施加符合範例 6 之乳劑 24 小時之後，疊加具有相同幾何的活體內心肌區域中老鼠胸腔橫切面的 T2-加權 MRI 圖像(1.5 特斯拉, Philips)與彩色的  $^{19}\text{F}$  圖像( $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ )。(B)心肌做為  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$  圖像的放大細節，顯示含氟對比劑對心肌梗塞程度以及手術造成之心包膜與肋骨間的附著位置的密集。(C)原位(in situ)紀錄老鼠心臟，顯示出除了梗塞區域外心包膜(綠色輪廓)之強烈明確的發炎。

**【0166】** 因此，可以顯示對比劑在梗塞的區域變得豐富。再者，第 7 圖中顯示 MRI 圖像與組織切片的比較。

**【0167】** 第 7 圖顯示：(A)在施加符合範例 6 之乳劑 24 小時之後，疊加具有相同幾何的活體內心肌區域中老鼠胸腔橫切面的

T2-加權 MRI 圖像(1.5 特斯拉, Philips)與彩色的  $^{19}\text{F}$  圖像( $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ )。  
(B)心肌做為  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$  圖像的放大細節,顯示含氟對比劑對心肌梗塞程度以及手術造成之心包膜與肋骨間的附著位置的密集。(C)A 顯示梗塞的老鼠心肌之示範的組織短軸截面[7 $\mu\text{m}$ ]的蘇木精-伊紅染色法(HE staining)。

**【0168】** 測試此乳劑於兩種模式:心肌梗塞模式,其時間軸反映於第 8 圖中;以及心肌炎模式,其時間軸反映於第 9 圖中。

**【0169】** 梗塞的誘發

**【0170】** 對於動物,使用具有 200 至 350 克重量的 SD (Sprague-Dawley) -老鼠。

**【0171】** 麻醉:藉由異氟烷(isoflurane)的吸入,鎮靜這些動物於麻醉箱中,接著透過肌注用法麻醉這些動物。即使是在麻醉過程中,麻醉確保免於疼痛。因此,這些動物獲得麻醉與鎮痛的混合物:0.15 毫克/公斤美托咪定(medetomidine)+ 0.05 毫克/公斤吩坦尼(fentanyl) + 2.0 毫克/公斤米達諾 i.m.(midazolam i.m.); 0.75 毫克/公斤阿替美唑(atipamezole)+ 0.12 毫克/公斤納洛酮(naloxone) + 0.2 毫克/公斤 s.c.影響中和。因為先前使用氟尼辛(2.5 毫克/公斤 s.c.)的經驗,應使用其作為手術後疼痛治療的準備。如果治療失敗,應考慮使用丁基原啡因(0.05 毫克/公斤 s.c.)修改疼痛治療。

**【0172】** 接著,動物在後續的插管得到 i.m.阿托平(atropine)來支持循環以及保護對於迷走神經的刺激。

【0173】 心血管疾病中之基於氟的對比劑：

【0174】 即使美托咪定的使用基本上僅對於具有健康的心血管系統之動物係可取的，必須預期法蘭克史達林機制(Frank Starling mechanism)在健康年輕的動物(對具有約 200g 體重的動物實施有計畫的心胸肺測量)中並非完全成熟的。因此，藉由增加的心搏血量(stroke volume)可無法足夠地補償透過美托咪定之中樞抗交感神經過敏(central-antisymphaticotonic)活動調和的心搏過緩。阿托平的使用造成心臟作功的增加。然而，藉由附加  $\alpha_2$  受體激動引起的血管收縮實質上並無改變冠狀動脈(以及腦與腎臟)的血流量，以使此處無法預測具體的心臟負荷，而阿托平的頻率作用(chronotropic effect)對於循環之整體情況應該是佔支配地位的。因此考慮短暫的高血壓循環條件(hypertensive circulatory condition)應該為良好的耐受性，這符合在術後階段的臨床觀察。此外，亦將冠狀動脈結紮及其對於心臟之幫浦效能(pumping performance)的可能的(急性)作用納入考慮。然而，因為人工運作的複雜度以及受測動物之冠狀動脈解剖的差異性，無法制定普遍的定則。

【0175】 在美托咪定的術後中和之後，高血壓的作用立即地消退，以使高血壓持續的時間在合理的範圍內，並且最重要的是可控制。

【0176】 因為在運作測量中動物係插管的，一方面有迷走神經之刺激(伴隨著連續的心搏過緩)的風險，而另一方面有唾液分

泌過多(hypersalivation)之例子的複雜插管風險；後者與我們的經驗係一致的。這些風險可以藉由在術前使用阿托平而降低。

**【0177】** 總而言之，發現對於在術前使用阿托平的跡象。

**【0178】** 在耐受期(tolerance stage)開始之後，將老鼠剃毛並且於左側消毒。

**【0179】** 接著連接老鼠至呼吸幫浦，呼吸幫浦設定為 75-80 每分鐘衝程的頻率以及 2.0 毫升(對於 200-250 公克的老鼠)的潮氣量。建議在開胸手術開始之前盡可能延遲連接動物至呼吸幫浦，因為人工呼吸總是意味著有機體中的另一種干預。

**【0180】** 連接呼吸幫浦之後，可以使用彎鉗在第五支肋骨和第六支肋骨的平坦區域上打開胸腔。這應該要非常小心進行，因為非常容易傷害到肺。必須打開胸腔超過約 1.0 公分至 1.5 公分的長度來安裝腹壁牽引器。只要產生足夠大的運作區域，必須可選擇地藉由對應的軟組織剝離來檢測左冠狀動脈的過程。這起源於肺動脈幹以及左心耳之間的主動脈，可藉由心外膜脂肪線輕易地辨識。然而，時常看不到左冠狀動脈，或者僅看到部分，因為老鼠的冠狀動脈血管不在表面上運行，而是在心肌內。左冠狀動脈的主要分支、左前下行動脈(Left Anterior Descending, LAD)本質上直接從主動脈根部至心尖移動。藉由冠狀動脈結紮(ligature)切斷 LAD 之近側分支(D1 或 D2)中的一者。藉由單結縫合(single-knot suture)影響 D1 或 D2 側支的縫合結紮(suture-ligature)。(近)LAD 本身的閉塞會造成延長的梗塞情況，僅有很少的動物存

活。隨後，閉合胸廓於兩層內(肋骨以及皮呼縫合)。藉由兩個或三個單結縫合閉合肋骨。僅放置胸部肌肉於彼此的頂部。藉由連續的手套式縫術(**glover's suture**)閉合皮膚接縫。

**【0181】** 在結紮之後 3 天，對動物施用含氟的乳劑。再 24 小時之後實施 MRI 分析(請參照第 8 圖)。

**【0182】** 在整個六天的測試過程中，所有的動物美 12 小時就被給予鎮痛：身體質量 s.c.的氟尼辛(氟乃達 **Finadyne**)2.5 毫克/公斤。

**【0183】** 一周兩次從所有的動物取得發展的普遍資料，如體重以及行為。

**【0184】** 梗塞手術：

**【0185】** 藉由異氟烷(**isoflurane**)的吸入，鎮靜這些動物於麻醉箱中，接著透過混合 **Domitor®/Dormicum®**溶液(每公斤體重 0.3 毫克的美托咪定以及 0.4 毫克的米達諾)的肌注用法麻醉這些動物。接著，動物在後續的插管得到阿托平(每公斤質量 0.01 毫克阿托平, s.c.)來支持循環以及保護對於迷走神經的刺激。

**【0186】** MRI 檢查：

**【0187】** 這些動物只獲得吸入麻醉(氧氣+異氟烷 2.0%)。後者係良好耐受的，且這些動物之後沒有長時間的清醒階段。

**【0188】** 在麻醉下，透過尾靜脈對這些動物施用基於氟的對比劑。

**【0189】** 心肌的發炎模式：

**【0190】** 在連續六週的期間，一週一次所有動物獲得小紅莓 (doxorubicin) 或等張食鹽水的靜脈用法。各用法在全身麻醉下生效。在最後施用的一個星期後，對這些動物施用本發明之乳劑。24 小時之後實施 MRI 分析。

**【0191】** 已修改依照範例 6 之乳劑，其中使用聚乙二醇磷脂取代乳化劑。發現乳劑液滴的調理作用 (opsonation) 顯著地降低。因為此效應，預期發炎區域中氟碳化合物 (F6H8) 的量低於檢測極限。然而，出人意外地發現可以對於心肌炎造影，如第 11 圖中所示。

**【0192】** MRI 檢查的日子裡，這些動物獲得吸入麻醉 (異氟烷以及氧氣混合物 1.5%-2.5%)。再者，根據這些動物所屬的組別，在檢查過程中透過尾靜脈對牠們施用基於氟對比劑的劑量。在最後的 MRI 檢查之後，藉由提供過量的異氟烷犧牲個別的動物，隨後移除器官。

**【0193】** 所有的動物更獲得鎮痛。為此目的，使用乙醯氨基酚 (paracetamol) AL，因為他僅具有少量的抗發炎作用。在整個實驗過程中，這些動物透過飲水獲得體重之 150 毫克/公斤的用量的乙醯氨基酚。

**【0194】** 每天從這些動物取得發展的普遍資料，如體重以及行為。

**【0195】** 心肌炎的誘發：

**【0196】** 這些動物只獲得吸入麻醉 (氧氣+異氟烷 2.0%+笑氣)。

後者係良好耐受的，且不會造成延長的清醒階段。伴隨著麻醉的吸入，這些動物獲得對應的鎮痛。

**【0197】 MRI 檢查：**

**【0198】** 這些動物只獲得吸入麻醉(氧氣+異氟烷 2.0%)。後者係良好耐受的，且不會造成延長的清醒階段。在麻醉下，透過尾靜脈對這些動物施用基於氟的對比劑。

**【0199】** 使用範例 6 組成物處理之動物的梗塞的磁造影結果反映於第 10 圖中，且使用除了用聚乙二醇磷脂取代乳化劑之外如範例 6 中所述之乳劑處理之動物的心肌炎反映於第 11 圖中。

**【0200】** 綜上所述，雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明。本發明所屬技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾。因此，本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

#### **【符號說明】**

**【0201】**

無

※ 申請案號：103107324

※ 申請日： 103/03/05

※IPC 分類：

A61K 49/18 (2006.01)

A61K 49/10 (2006.01)

107年10月25日修正本

**【發明名稱】(中文/英文)**

含半氟化化合物之水乳劑、其使用與製造方法及半氟化化合物之檢測方法/AQUEOUS EMULSION CONTAINING SEMIFLUORINATED COMPOUND, USE OF AND METHODS OF MANUFACTURING THE EMULSION, AND METHOD OF DETECTING THE COMPOUND

**【中文】**

本發明關於一種水乳劑(aqueous emulsion)，包括：

a)一種半氟化化合物，如化學式 I 所示：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數，

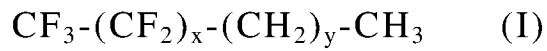
b)三酸甘油脂，在 20°C 下與半氟化化合物互溶；以及

c)乳化劑。

**【英文】**

The present invention relates to an aqueous emulsion comprising

a) a semifluorinated compound of formula I:



wherein x is an integer ranging from 1 to 8 and y is an integer ranging from 2 to 10,

- b) a triglyceride which is miscible with the semifluorinated compound at 20 °C; and
- c) an emulsifier.

**【代表圖】**

**【本案指定代表圖】**：第（ 1 ）圖。

**【本代表圖之符號簡單說明】**：無

**【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】**：

無

## 申請專利範圍 107年10月25日修正本

1. 一種水乳劑，包括：
  - a) 一半氟化化合物，如化學式 I 所示：
$$\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_x-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_3 \quad (\text{I})$$
其中  $x$  係 1 至 8 的整數， $y$  係 2 至 10 的整數；
  - b) 一三酸甘油脂，在 20°C 與該半氟化化合物互溶；以及
  - c) 一乳化劑。
2. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物係全氟己基正辛烷(perfluorohexyloctane, F6H8)和/或全氟丁基戊烷(perfluorbutylpentane, F4H5)。
3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之乳劑，根據該乳劑的總重量，其中該半氟化化合物 a) 以及該三酸甘油脂 b) 的含量係為 5 至 40 重量百分比(wt.-%)。
4. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之乳劑，根據該乳劑的總重量，其中該半氟化化合物 a) 以及該三酸甘油脂 b) 的含量係為 10 至 30 wt.-%，其中該三酸甘油脂 b) 為一中鏈三酸甘油脂。
5. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項所述之乳劑，根據該乳劑的總重量，其中該半氟化化合物 a) 以及該三酸甘油脂 b) 的含量係為 15 至 25 wt.-%，其中該三酸甘油脂 b) 為一中鏈三酸甘油脂。
6. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物 a) 對該三酸甘油脂 b) 的重量比係為 1 : 20 至 1 : 0.20。
7. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物

a)對該三酸甘油脂 b)的重量比係為 1 : 15 至 1 : 0.25，其中該三酸甘油脂 b)為一中鏈三酸甘油脂(Mid-Chain Triglyceride, MCT)。

8. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物 a)對該三酸甘油脂 b)的重量比係為 1 : 10 至 1 : 0.30，其中該三酸甘油脂 b)為一中鏈三酸甘油脂 (Mid-Chain Triglyceride, MCT)。

9. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物 a)對該三酸甘油脂 b)的重量比係為 1 : 4 至 1 : 0.35，其中該三酸甘油脂 b)為一中鏈三酸甘油脂(Mid-Chain Triglyceride, MCT)。

10. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，其中該半氟化化合物 a)對該三酸甘油脂 b)的重量比係為 1 : 2 至 1 : 0.4，其中該三酸甘油脂 b)為一中鏈三酸甘油脂 (Mid-Chain Triglyceride, MCT)。

11. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，用作一對比劑或一對比增強劑。

12. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，藉由使用核磁共振造影技術(MR-techniques)之一造影過程的手段，該乳劑對於診斷檢測用作一對比劑或一對比增強劑。

13. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，藉由發炎過程之一造影過程之手段用來診斷檢測，發炎過程選自由附加梗塞的發炎反應，；器官的發炎；多發性硬化症(multiple sclerosis)；胃腸道的發炎；血管的發炎；膿腫(abscesses)以及關節炎(arthritis)的檢

測，其中該造影過程係基於測量  $^{19}\text{F}$  同位素的核磁共振。

14. 如申請專利範圍第 13 項所述之乳劑，其中附加梗塞的發炎反應包括心肌梗塞(myocardial infarction)及中風(stroke)之至少其中之一；器官的發炎包括心肌炎(myocarditis)、腦炎(encephalitis)及腦膜炎(meningitis)之至少其中之一；胃腸道的發炎包括克隆氏症(Crohn's disease)；血管的發炎包括動脈硬化(arteriosclerosis)。

15. 如申請專利範圍第 14 項所述之乳劑，其中動脈硬化(arteriosclerosis)包括易損斑塊(vulnerable plaques)。

16. 如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，基於心血管系統(cardio-vascular system)的複數個非侵入性造影過程用來診斷檢測，心血管系統包括心肌(myocardium)、動脈(arteries)以及靜脈(veins)；發炎反應發生於疾病過程，導致發現於神經學中的脈管之發炎以及退化過程；肺學(pulmology)；腸胃病學(gastroenterology)；以及風濕病(rheumatology)。

17. 如申請專利範圍第 16 項所述之乳劑，其中疾病過程包括心肌梗塞、心肌炎、動脈粥狀硬化(atherosclerosis)以及血栓症(thrombosis)之至少其中之一；脈管之發炎以及退化過程包括中風或腫瘤；肺學(pulmology)包括血栓症及發炎及類肉瘤病(sarcoidosis)之至少其中之一；腸胃病學(gastroenterology)包括腫瘤及發炎性腸道疾病(inflammatory bowel diseases)之至少其中之一；風濕病(rheumatology)包括血管的自體免疫性疾病(autoimmune diseases)。

18. 如申請專利範圍第 17 項所述之乳劑，其中發炎性腸道疾病(inflammatory bowel diseases)包括克隆氏症；血管的自體免疫性疾病 (autoimmune diseases) 包括高安氏動脈炎 (Takayasu arteritis)。

19.如申請專利範圍第 1 項所述之乳劑，使用於一核磁共振造影過程。

20.一種製造如申請專利範圍第 1 項至第 18 項中任何一項所述之乳劑的方法，包括複數個步驟：

步驟 a)製備一混合物，藉由混合

一半氟化化合物，如化學式 I 所示：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數，

一三酸甘油酯，在 20°C 與該半氟化化合物互溶，

一乳化劑；以及

水；

步驟 b)均勻化步驟 a)中所得到的該混合物；以及

步驟 c)選擇性地滅菌該乳劑。

21. 如申請專利範圍第 20 項所述之方法，包括下列複數個步驟：

步驟 a)製備該混合物，藉由：

步驟 a-1)製備一包括水以及該乳化劑的混合物，

步驟 a-2)製備同質的一混合物，同質的該混合物包括該

半氟化化合物以及該三酸甘油酯，及

步驟 a-3)結合步驟 a-1)中所得到的該混合物以及步驟 a-2)中所得到的該混合物；以及

步驟 b)均勻化步驟 a)中所得到的該混合物。

22. 如申請專利範圍第 21 項所述之方法，其中步驟 b)包括用高壓的一均質機均勻化步驟 a)中所得到的該混合物。

23. 一種操作磁振斷層掃描儀(magnetic resonance tomography)來檢測一半氟化化合物的方法，該半氟化化合物如化學式 I 所示：



其中 x 係 1 至 8 的整數，y 係 2 至 10 的整數，如申請專利範圍第 1 項至第 18 項中的任何一項所定義之乳劑中，該方法包括：

發射一交變磁場(alternating magnetic field)；以及

藉由待檢查的一樣品來檢測已發射之該磁場的吸收；

其特徵在於該交變磁場的頻率係在  $H \cdot 40.05650\text{MHz/T}$  以及  $H \cdot 40.06150\text{MHz/T}$  之間，H 係磁場強度，單位為特斯拉(Tesla, T)。