

發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：97108058

※申請日期：97年03月07日

※IPC分類：

A61k 9/107 (2006.01)
A61k 47/44 (2006.01)
A61k 31/685 (2006.01)
A61k 31/575 (2006.01)

一、發明名稱：

(中) 水性微乳液於製備供治療脂肪性疾病用之調合物上之用途

(英) Use of an aqueous micro-emulsion for the preparation of a formulation for the treatment of adipose diseases

二、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 梅茲製藥有限兩合公司

(英) MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA

代表人：(中) 1. 克里斯汀 帕特斯奇

(英) 1. PERTSCHY, CHRISTIAN

地 址：(中) 德國法蘭克福緬因艾肯海梅蘭德路一〇〇號

(英) Eckenheimer Landstrasse 100, D-60318 Frankfurt, Germany

國籍：(中英) 德國 GERMANY

三、發明人：(共 4 人)

1. 姓 名：(中) 艾加 曼楚波

(英) MENTRUP, EDGAR

國 籍：(中) 德國

(英) GERMANY

2. 姓 名：(中) 瑞那 普斯

(英) POOTH, RAINER

國 籍：(中) 德國

(英) GERMANY

3. 姓 名：(中) 湯瑪士 威瑪

(英) WIMMER, THOMAS

國 籍：(中) 德國

(英) GERMANY

4. 姓 名：(中) 席葛德 卓威斯

(英) DREWES, SIGRID
國 籍：(中) 德國
(英) GERMANY

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

- | | | | |
|-------|--------------|--------------|--|
| 1. 歐洲 | ； 2007/03/14 | ； 07005271.7 | ☒ 有主張優先權 |
| 2. 美國 | ； 2007/03/16 | ； 60/907,040 | ☒ 有主張優先權 |

(英) DREWES, SIGRID
國 籍：(中) 德國
(英) GERMANY

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

- | | | | |
|-------|--------------|--------------|--|
| 1. 歐洲 | ； 2007/03/14 | ； 07005271.7 | ☒ 有主張優先權 |
| 2. 美國 | ； 2007/03/16 | ； 60/907,040 | ☒ 有主張優先權 |

九、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種包含至少一種具有介於 5 與 15 之間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質，和水的微乳液之用途，其用於供製備治療脂肪性疾病及/或狀況用之藥物。

【先前技術】

一般而言，包括界面活性劑，親脂性物質和水的微乳液係於藥學調配領域中熟知用於顯示不良水溶性的藥物之安定載劑。在此等熟知的微乳液中，總是有特別的活性成分支配其他組份的選擇。彼等應針對活性成分係最有效的身體部位之合宜途徑而定製且彼等不應與藥物交互作用。

因此，微乳液調合物的組份所具除了載劑功能以外的任何作用都是不宜者。

另一方面，磷脂和膽酸或其衍生物的水性系統係熟知用於化妝品和藥學調合物的製備者。EP 0 615 746 A1 和 WO 2005/112942 A1 述及此等調合物，其可載運藥學活性物質或可不含此等活性成分之下使用。在後述情況中，其述及此等脂質體可用於治療動脈粥樣硬化，升高的血脂質，和任何類型的肝病。所述系統顯示清楚的脂質體結構，亦即一封裝水相的雙層脂質膜。在近來的文獻中進一步述及此等脂質體系統在局部皮下注射時可減少脂肪組織 (Patricia Guedes Rittes, The use of phosphatidylcholine

for correction of lower lid bulging due to prominent fat pads, Dermatol Surg 2001, 27, 391-392)。另外，也已知有一用於脂肪栓塞的預防和治療之特別脂質體系統，其包含磷脂，膽酸，DL- α -生育酚，乙醇和水(Lipostabil® N i.V.)。

不過，該用於減少脂肪組織的治療之已知的磷脂和膽酸或其衍生物之水性脂質體系統具有明顯的缺點：彼等於組織內部的分布不良且因此其作用係相當局部地被約束在直接注射點。因此，至今對於較廣面積的組織之治療仍需要施用許多彼此靠近的注射。

【發明內容】

因此，本發明一項目的為提供一種供治療脂肪疾病及/或狀況用的調合物，其顯示良好的生物相容性和提高的生物利用率使得可影響到較廣面積的脂肪組織。

出人意外地，頃發現一種包含至少一種具有 5 與 15 之間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質和水的微乳液於供治療脂肪疾病及/或狀況用的調合物之製備上的用途可滿足本發明目的。

本發明進一步關於包含至少一種具有 5 與 15 之間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質和水的微乳液於治療脂肪疾病及/或狀況之用途。

本發明進一步關於一種方法包括：對人投予一有效治療脂肪疾病及/或狀況的量之包含至少一種具有 5 與 15 之

間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質和水的微乳液。

本發明微乳液之新用途顯示在脂肪組織中的較佳生物利用率和較佳分布。因此，當欲治療較廣面積的組織時，其容許較少的注射且一般而言，較佳的脂肪分解作用 (lipolysis)。咸信該有利的效用係因為相較於現有技藝脂質體系統而言，該三元微乳液系統結構中的差異，伴隨著其顯著的性質如熱力學穩定性和分布以及不同相液滴的尺寸所導出。此外，可以看到該三元微乳液系統的特殊依數性 (colligative property) 對於改良係有關者。不過，牽涉到的運輸機制並未被充分了解使得對於該機制的科學合理證據尚未被發現。

微乳液為水，油和界面活性劑的透明，各向同性液態混合物。水相可包含鹽及 / 或其他成分。微乳液可從大量組份製備。與普通乳液相比，微乳液係由各組分的簡單混合所形成且不需要高剪切條件。在三元系統例如微乳液中，有兩個不混溶的相 (水和“油”) 係接著界面活性劑相而存在，界面活性劑分子於油與水之間的介面形成單層。界面活性劑分子的疏水性部分係溶解於油相中而界面活性劑分子的親水性部分係於水相中。微乳液係由界面活性劑以一特殊的方式所熱動力學地穩定化，因為彼等不是單純地油液滴在水中的分散液，或反之亦然，而是溶質、溶液、反和正微胞 (micelles)、和微乳液液滴的更複雜混合物。

本發明微乳液的液滴尺寸較佳地為介於 10 奈米與 200

奈米之間，更佳地介於 30 奈米與 100 奈米之間。

本發明微乳液系統的親脂性物質可選自天然油類(例如大豆油)、中鏈烷基酸與二醇的酯類、辛基-十二烷醇(octyl-dodecanol)、矽油、鏈烷烴(paraffins)、脂肪酸及/或彼等的酯類、及維生素如核黃素、菸鹼醯胺、及/或 L-肉鹼所組成的群組。

根據本發明的微乳液較佳地為透明或不透光者。微乳液在一給定的壓力，溫度，和組成範圍內為單一相。相異於乳液者，由於彼等的小粒子尺寸使得彼等係熱力學穩定系統且彼等具有下述優點：彼等可自然地建立且即使貯存一段長時間也仍然安定。

由所用界面活性劑的類型而定，微乳液可區分為離子性和非離子性微乳液。

在術語“HLB 值”中，HLB 代表親水-親油平衡。具有低 HLB 值的界面活性劑係較親脂性者且因而傾向於使水進入油乳液中，而具有高 HLB 值者係更親水性者且傾向於使油進入水乳液中。每一種界面活性劑的 HLB 值係由對界面活性劑的特性之分析所決定。各種界面活性劑的 HLB 值表單可於例如 The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Edition 等許多參考資料中取得。HLB 值可用來預測一分子的界面活性性質，典型地從 3 至 6 的值代表 W/O 乳化劑，從 7 至 9 的值代表濕潤劑，8 至 12 的值代表 O/W 乳化劑，從 12 至 15 的值典型地為清潔劑(detergent)，且 15 至 20 的值代表一種溶解化劑

(solubiliser)或水增溶劑(hydrotrope)。

較佳地，本發明界面活性劑可選自 3-sn-磷脂醯膽鹼， soy(phospholipone 90)，還原 soy(phospholipon 90H)， 3-(3sn)-磷脂醯甘油、 soy(phospholipon G)，二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油，溶血-磷脂醯膽鹼，二棕櫚醯基磷脂醯甘油，及/或彼等的生理可接受之鹽類，脫氧膽酸，膽酸，石膽酸，鵝脫氧膽酸，豬脫氧膽酸，三羥基糞酸，熊脫氧膽酸，牛膽酸，或甘胺膽酸及/或彼等的生理可接受之鹽類，及乙氧基化醇與烷基-醇(C6-C16)的醚類，具有乙氧基化醇的 C8-C20 烷基一酯，C8-C20 飽和與不飽和酸與糖類的酯，烷基醚硫酸酯類如蓖麻油和環氧乙烷的聚醚(cremephor EL)，聚氧乙烯脂肪醇醚，聚山梨酸單酯，普羅沙姆(poloxamer)，泊洛沙胺(poloxamine)所組成的群組。

較佳地，本發明微乳液可由至少一種界面活性劑，其係選自乙氧化醇與烷基醇(C6-C16)的醚類、具有 C8-C20 與乙氧化醇類的烷基一酯、C8-C20 飽和與不飽和酸與糖類的酯、烷基醚硫酸酯類如蓖麻油和環氧乙烷的聚醚(cremephor EL)、聚氧乙烯脂肪醇醚、聚山梨酸單酯、普羅沙姆、和泊洛沙胺所組成的群組；至少一種親脂性物質，其係選自天然油類(例如大豆油)、中鏈烷基酸與二醇的酯、辛基-十二烷醇、矽油類、鏈烷烴類、脂肪酸及/或彼等的酯類、核黃素、菸鹼醯胺、和 L-肉鹼、生理可接受鹽類所組成的群組；和水所構成。

甚至更佳地，本發明微乳液系統可由至少一種界面活性劑，其係選擇自聚山梨酸酯、聚乙氧基化蓖麻油、和山梨糖醇酐一油酸酯；至少一種親脂性物質，其係選自天然油類(例如大豆油)、中鏈脂肪酸與二醇的酯、辛基-十二烷醇、矽油類、鏈烷烴類、脂肪酸及/或彼等的酯類、核黃素、菸鹼醯胺、和 L-肉鹼、生理可接受鹽類；和水所構成。

令人訝異地發現界面活性劑的選擇在微乳液系統的效用性上扮演最重要的角色。因此，乃進行研究而顯示出高度有效的系統係建基於上述聚合物界面活性劑。

更佳地，該界面活性劑具有 7 與 13 之間，更佳者 9 與 11 之間的 HLB 值。

由於在微乳液中加上親脂性物質，可達到活性物質的甚至更佳分布。因此，單次注射即可影響到較廣面積的組織。

於本發明一較佳具體實例中，該系統進一步包含共-界面活性劑(co-surfactant)。

一般而言，共界面活性劑比具有 9 至 17 的 HLB 值之界面活性劑為較低親脂性。

如此，本發明微乳液系統可達到進一步的安定化而導致較長的擱置壽命。

共-界面活性劑可特別地選自 3-sn-磷脂醯膽鹼，soy(phospholipone 90)，還原 soy(phospholipon 90H)，3-(3sn)-磷脂醯甘油、soy(phospholipon G)，二肉豆蔻醯基

磷脂醯甘油，溶血-磷脂醯膽鹼，二棕櫚醯基磷脂醯甘油，及/或彼等的生理可接受之鹽類，脫氧膽酸，膽酸，石膽酸，鵝脫氧膽酸，豬脫氧膽酸，三羥基糞酸，熊脫氧膽酸，牛膽酸，或甘胺膽酸及/或彼等的生理可接受之鹽類，及乙氧基化醇與烷基-醇(C6-C16)的醚類，具有乙氧基化醇的C8-C20烷基酯，C8-C20飽和與不飽和酸與糖類的酯，烷基醚硫酸酯類如蓖麻油和環氧乙烷的聚醚(cremephor EL)，聚氧乙烯脂肪醇醚，聚山梨酸單酯，普羅沙姆，泊洛沙胺所組成的群組。

根據本發明另一較佳具體實例，該系統額外地包含一醇。特別較佳的醇為C2-C8醇類，且特別是乙醇，丙二醇，和甘油。

於本發明一較佳具體實例中，親脂性物質對界面活性劑的質量比較佳地為介於10:1與1:10重量%之間，更佳地介於1:0.2與1:1.5重量%之間。

微乳液系統中的界面活性劑濃度較佳地係介於0.5與50重量%之間，特別者介於5與25重量%之間。

本發明系統的pH值為中性且範圍較佳地係介於5.0與9.0之間，更佳地介於6.0與8.0之間。

在術語“脂肪組織疾病及/或狀況”下係理解為特別是任何不要的局部脂肪沉積及/或下列疾病例子：包括單純的無美感外觀如橘皮組織(cellulite)：

脂肪瘤(lipomae)為良性緩慢生長的脂肪細胞腫瘤，較佳地位於皮下脂肪組織而可以各種形式和特性發生。彼等

可發展黏液，白堊及/或變得鈣化。此外，可能發生增加結締組織和被膜的建立加上新建的血管，此等皆分類為不正常者，因為對血管以及神經細胞上的壓縮都是會痛者。脂肪瘤以各種徵候群發生例如 Gardner 徵候群，Lanois-Bensaude 徵候群，和 Proteus 徵候群。

痛性脂肪過多症 (lipomatosis dolorosa) 和橘皮組織為脂肪組織過度增生的特別形式，其位於真皮脂肪帶和真皮下側之間。由於激素的影響，觀察到於此等脂肪細胞中提高的結合水之能力，其本身會引發壓力並隨後造成在淋巴管中的充血。此外，也會對周圍敏感性神經施加壓迫和刺激使得病人對於接觸具有極度的敏感性。逐年後，會在薄真皮下構建出不規則散發性局部化的脂肪結 (fatty node)，其會引發疼痛並顯示不美感的特質。

在本文中也要提及如脂肪水腫 (lipoedema) 或脂肪失養徵候群等狀況。

前面提及的脂肪組織疾病展現出相異於消化相關的脂肪疾病病理生理組織狀況之處在於可由組織學的傷疤和發炎參數以及組織學的脂肪組織形態學之修改而鑑定。

在術語“退化 (regression)”下特別的要理解者為其中係發生脂肪組織的脂肪分解或多生性脂肪組織的變性。

用本發明調合物治療較佳地係針對橘皮組織及/或不美感的脂肪組織之局部沉積。相異於已知的治療者，特別是主要不美感特質的部位為非常易於接受來自良好生物相容性和提高的生物利用率的有利效用使得較廣的面積可用

單次施加即達到。

一般而言，所有不要的及/或不美感的脂肪組織都可用本發明調合物治療。此包括眼睛周圍，臉頰，頸部和下顎區，背，手臂下部和周圍，大腿，胃上方和下方區內，膝部，及/或所謂的男性腰間贅肉(lovehandlesby)，女性的 gluteal bananas，和鞍背(saddleback)等的脂肪組織。

特別者，使用本發明微乳液時，可較佳地治療於眼睛周圍，手臂下部，頸和下巴區內及/或於大腿之不美感脂肪組織的局部沉積。彼等身體區域常會顯示出高敏感性使得注射點和注射頻率的可能減少係最有益者，特別是對於所提區域內的組織。

本發明微乳液系統的製備可為例如使得至少一種界面活性劑和至少一種親脂性物質以上面所揭露的比率混合於水中。該製備可由任何已知微乳液製備的形式進行。

本發明微乳液系統的應用可由任何形式的注射或局部應用，特別者由皮下注射，動脈內注射，肌肉內注射或靜脈內注射而進行。

經皮應用也可於各種載劑介質內進行。於此，可應用各種輔助技術例如離子電滲療法。該應用可例如經由靜液壓力來進行。如此，可達成均勻的分布。

較佳地，每一調合物單位具有一獨特劑量的微乳液系統作為活性成分。此劑量可達到從約 10 毫克至約 3000 毫克，較佳者從約 100 毫克至約 1000 毫克每界面活性劑總重量。

對於經由施加注射溶液的成人病患治療而言，取決於要治療的脂肪組織之尺寸，係投予每次注射 5 毫克至 5000 毫克，較佳者 250 毫克至 2500 毫克每界面活性劑總重量之每日劑量。

該劑量也取決於脂肪積存的尺寸及/或脂肪細胞的失序分布及/或脂肪疾病的類型。其應針對單一病患的需要來製定。在小脂肪瘤的情況中，可使用甚至是 10 毫克至 50 毫克的量。

【實施方式】

實施例：

使用 4 種液體化合物的 LDH 釋放和 Calcein-AM 釋放檢定試驗對脂肪細胞中的細胞毒性之效應，彼等的參考編號如下：

1 TWEEN 80 (為一種聚山梨酸酯 80)；

2 CREMOPHOR EL (為一聚乙氧基化蓖麻油)；

3 SPAN 80V (為山梨糖醇酐單油酸酯)，及

作為先前技藝系統的參考例的 4 LIPOSTABIL™ (為一種含磷脂醯膽鹼和膽酸的脂肪分解注射溶液)。

實驗係於 96 洞/板中實施且 1：512 的稀釋率建議將 0.37 微升的液體化合物物介質直接地添加到 200 微升 DMEM-培養基中的細胞。

稀釋係於室溫進行且在 4 小時後觀察到完全的無色或黃色微乳液。

實驗程序

細胞培養：

初代人類前脂肪細胞 (preadipocytes) 係得自 Promocell (Heidelberg, Germany)。Order No 為 C-12731 且 Lot-NO 5112201 (腹部，44 歲的白人女性)。

培養記錄：

將人類前脂肪細胞維持於前脂肪細胞生長培養基 (Preadipocyte Growth Medium) 中 (DMEM; Biowhitaker Cat : BE12-604F/U1; Lot N° 6MB0130 包含 10% 熱鈍化的 FCS 和 1% 青黴素 - 鏈黴素) 置於 37 °C 5% CO₂ 的增濕氣體環境中。細胞係於數個 T75 燒瓶中擴增達 60-80% 匯合率。為了分化，將脂肪細胞 (104 細胞/洞) 生長於 96-洞板中來達到匯合率。於此點 (第 0 天)，將細胞轉換到分化培養基 (DMEM, 10% FBS, 0.25 μM 地塞米松 (dexamethasone), 0.25 mM IBMX, 和 1 微克/毫升胰島素) 3 天，其間有一次培養基變換。於第 3 天，移除地塞米松和 IBMX，將胰島素繼續留在細胞上 4 天，每 2 天換一次培養基。之後，將細胞保持於原來的增殖 DMEM 中，每 2-3 天換一次培養基直到使用為止。在使用細胞經 >75% 分化的板於實驗 (後誘導第 10 天)。在 7 天的培養之後，脂肪細胞為圓形且充滿可輕易辨識的脂肪球體。

細胞毒性分析：使用得自 Promega 的 CytoTox-ONE™

Homogeneous Membrane Integrity Assay 來研究 LDH 釋放 (Order No G7892 和 Lot-No 234242/27/09/08)。將經分化的脂肪細胞以試驗化合物處理 24 或 48 小時並根據製造者的指導使用螢光計檢定 CytoTox-ONE(參閱上文)偵測 LDH 的釋放。最大 LDH 釋放係由使用 0.1% Triton X-100 使細胞完全分解而測定。使用單獨以水處理的對照細胞來決定 LDH 釋放的基線水平(0%細胞死亡率)。螢光係使用特定的螢光用 96 微洞板於 Genius Pro 裝置內偵測。吾人使用 530-570 奈米範圍內的激發濾光器及於 580-620 奈米範圍內的發光濾光器。

結果的計算

由 LDH 釋放的胞毒性百分比係根據製造商的指導計算 (<http://www.promega.com/tbs/tb306/tb306.pdf>)

$$\text{胞毒性百分比} = 100 \times \frac{(\text{實驗值} - \text{培養基背景值})}{(\text{最大LDH釋放值} - \text{培養基背景值})}$$

根據此計算，於未處理細胞中的自發性釋放可指示出在未處理細胞中的某種胞毒性。此係可解釋者，因為在前脂肪細胞上的匯合下，某些細胞不會分化為脂肪細胞且應預期到由細胞過度生長所致某些胞毒性。吾人總是發現到，於未處理的匯合前脂肪細胞中，LDH 釋放值可達到由 Triton X-100 所誘導的總 LDH 釋放值(100%釋放)之高達 15-20%的值且於分化的脂肪細胞中，自發性 LDH 釋放可

達到高達 35% 的值 (取決於培養時間)。此類型的計算可能誘發誤解且因此乃根據下面公式計算比胞毒性 (specific cytotoxicity) (S.C.) :

% 比胞毒性 =

$$100 \times \frac{(\% \text{自發性 LDH 釋放值(測試化合物)} - \% \text{自發性 LDH 釋放值(未經處理的細胞)})}{(\% \text{Triton} - \text{誘發 LDH 釋放值} - \% \text{自發性 LDH 釋放值})}$$

S.C. 值低於 0% 時係視為 0% 物質 - 誘發胞毒性。

使用 Calcein-AM 法分析於黏著細胞 (3T3-L1) 中的胞毒性 :

將細胞接種於 96-洞板中 (每洞 104 活細胞) 並讓其貼附於板 24 小時。24 小時之後，如指示刺激細胞另外 24 小時。在此等培養條件之下，3T3-L1 細胞並未分化為脂肪細胞。接著，清洗該等洞且讓細胞與 Calcein-AM (1 μ M) (Molecular Probes) 溫浸 30 分鐘。然後，在微滴板讀取器 (TECAN Genius Pro) 中偵測活細胞的螢光。使用此方法，測量出活細胞的 Calcein-AM 的攝取率。Calcein-AM 會被細胞酯酶水解並隨後於板讀取器中偵測由 Calcein 所發射出的螢光 (激發：490 奈米，發射：515 奈米)。

試驗物質的自發螢光分析：製備含培養基與單獨的試驗物質之無細胞對照組以測定試驗化合物對背景螢光的影響。吾人使用於 530-570 奈米範圍內的激發濾光器和於 580-620 奈米範圍內的發射濾光器。吾人發現於此研究中所包括的試驗物質沒有顯示自發螢光。

試驗物質對前脂肪細胞和分化脂肪細胞兩者的影響(LDH 釋放)：

爲了確認試驗物質於某些濃度下的胞毒活性，乃對未分化(24 小時處理)和分化的人類初代脂肪細胞的培養物以所示稀釋液處理 24 小時和 48 小時期間且測量上澄液中的 LDH 釋放。

表 1：試驗物質對前脂肪細胞和經分化脂肪細胞兩者的影響(LDH 釋放)

試驗物質 編號	稀釋	前脂肪細胞 (LDH)	分化的脂肪細胞(LDH)	
		24 小時	24 小時	48 小時
1	1 : 512	毒(38.1%)	毒(42.8%)	毒(100%)
2	1 : 512	毒(32.6%)	毒(56.1%)	毒(100%)
	1 : 10000	無毒	無毒	微毒(20.3%)
3	1 : 512	無毒	無毒	無毒
	1 : 10000	無毒	無毒	無毒
4(先前技藝)	1 : 512	無毒	無毒	無毒
	1 : 10000	無毒	無毒	無毒

試驗物質對脂肪細胞的胞毒性作用：

Calcein-AM 攝取：將細胞與不同濃度的試驗物質溫浸 24 小時，且以螢光 Calcein-AM 法分析細胞存活率。於此類型的檢定中，較高的 RFU(相對螢光單位)對應於活細胞。

表 2：仍存在對脂肪細胞的胞毒性時之稀釋率

試驗物質 編號	稀釋率	脂肪細胞 (Calcein-AM)	脂肪細胞 (LDH)
1	1 : 50	毒	毒
	1 : 100	毒	毒
	1 : 200	毒	毒
	1 : 400	毒	毒
	1 : 800	毒	毒
	1 : 1600	毒 (49.3%)	無毒
	1 : 3200	無毒	無毒
	1 : 6400	無毒	無毒
	1 : 12800	無毒	無毒
2	1 : 50	毒	毒
	1 : 100	毒	毒
	1 : 200	毒	毒
	1 : 400	毒	毒 (43.6%)
	1 : 800	毒 (48.4%)	無毒
	1 : 1600	微毒 (26.2%)	無毒
	1 : 3200	微毒 (22.2%)	無毒
	1 : 6400	無毒	無毒
	1 : 12800	無毒	無毒
3	1 : 12,5	毒	毒
	1 : 25	毒	毒
	1 : 50	毒	毒
	1 : 100	毒	毒
	1 : 200	毒	毒 (34.9%)
	1 : 400	毒	無毒
	1 : 800	微毒 (34.9)	無毒
	1 : 1600	無毒	無毒
	1 : 3200	無毒	無毒
4(先前技藝)	1 : 12,5	毒	毒
	1 : 25	毒	毒
	1 : 50	毒	毒
	1 : 100	毒	毒
	1 : 200	毒	毒 (25.9%)
	1 : 400	毒 (50%)	無毒
	1 : 800	無毒	無毒
	1 : 1600	無毒	無毒
	1 : 3200	無毒	無毒

如從表 2 可看出者，可以推導出使用本發明微乳液於脂肪細胞的脂肪分解中之效用，即使在比磷脂醯膽鹼和膽酸系統 (Lipostabil TM) 的參考實施例遠較為高的稀釋率下亦然。

基於上面諸實施例，計算於 Calcein 檢定情況中有 50% 仍存活時或於 LDH 檢定的情況中產生 50% 細胞死亡率時的稀釋度。

結果顯示於下面表 3 中：

	Calcein 檢定	LDH 檢定
試驗物質 編號	於 50% 細胞存活 時的稀釋率	產生 50% 細胞死 亡率時的稀釋率
1	1 : 1631	1 : 328
2	1 : 793	1 : 184
3	1 : 724	ND*
4 (先前技藝)	1 : 438	1 : 32

*ND：對 LDH 檢定不能建立曲線。在濃度範圍從 1 : 12.5 至 1 : 200 時約 30% 的細胞死亡。

五、中文發明摘要

發明之名稱：水性微乳液於製備供治療脂肪性疾病用之調合物上之用途

一種包含至少一種具有介於 5 與 15 之間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質，和水的微乳液之用途，其用於製備供治療脂肪性組織疾病及/或狀況用之調合物，該調合物具有改善的生物利用率及良好的活性物質釋出行為。

六、英文發明摘要

發明之名稱：**Use of an aqueous micro-emulsion for the preparation of a formulation for the treatment of adipose diseases**

Use of a micro-emulsion comprising at least one surfactant having a HLB value between 5 and 15, at least one lipophilic substance, and water for the preparation of a formulation for the treatment of adipose tissue disease and/or condition with improved bioavailability and good release behaviour of active substances.

十、申請專利範圍

1.一種包含至少一種具有介於 5 與 15 之間的 HLB 值之界面活性劑，至少一種親脂性物質和水的微乳液之用途，係用於製備供治療脂肪性組織疾病及/或狀況用之調合物。

2.根據申請專利範圍第 1 項之用途，其中該微乳液具有介於 5 奈米與 200 奈米之間，較佳地介於 30 奈米和 100 奈米之間的粒子尺寸。

3.根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該微乳液額外地包含醇。

4.根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該至少一種界面活性劑具有介於 6 與 12 之間的 HLB 值。

5.根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該至少一種界面活性劑係選自 3-sn- 磷脂醯膽鹼、soy(phospholipone 90)、還原 soy(phospholipon 90H)、3-(3sn)-磷脂醯甘油、soy(phospholipon G)、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油、溶血-磷脂醯膽鹼、二棕櫚醯基磷脂醯甘油、及/或彼等的生理可接受之鹽類、脫氧膽酸、膽酸、石膽酸、鵝脫氧膽酸、豬脫氧膽酸、三羥基糞酸、熊脫氧膽酸、牛膽酸、或甘胺膽酸及/或彼等的生理可接受之鹽類、及乙氧基化醇與烷基-醇(C6-C16)的醚類、具有乙氧基化醇的 C8-C20 烷基一酯、C8-C20 飽和與不飽和酸與糖類的酯、烷基醚硫酸酯類如蓖麻油和環氧乙烷的聚醚(cremephor EL)、聚氧乙烯脂肪醇醚、聚山梨酸單酯、普

羅沙姆 (poloxamer) 、 泊洛沙胺 (poloxamine) 所組成的群組。

6. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該微乳液係由至少一種界面活性劑，其係選自乙氧化醇與烷基醇 (C6-C16) 的醚類、具有乙氧化醇類的 C8-C20 烷基一酯、C8-C20 飽和與不飽和酸與糖類的酯、烷基醚硫酸酯類如蓖麻油和環氧乙烷的聚醚 (cremephor EL)、聚氧乙烯脂肪醇醚、聚山梨酸單酯、普羅沙姆、和泊洛沙胺所組成的群組；至少一種親脂性物質，其係選自天然油類 (例如大豆油)、中鏈烷基酸與二醇的酯、辛基-十二烷醇、矽油類、鏈烷烴類、脂肪酸及 / 或彼等的酯類、核黃素、菸鹼醯胺、和 L-肉鹼、生理可接受鹽類所組成的群組；和水所組成。

7. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該微乳液係由選自聚山梨酸酯、聚乙氧基化蓖麻油、和山梨糖醇酐一油酸酯所組成的群組中之一種界面活性劑；至少一種選自天然油類 (例如大豆油)、中鏈烷基酸與二醇的酯、辛基-十二烷醇、矽油類、鏈烷烴類、脂肪酸及 / 或彼等的酯類、核黃素、菸鹼醯胺、和 L-肉鹼、生理可接受鹽類所組成的群組中之親脂性物質；和水所組成。

8. 根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該至少一種親脂性物質係選自天然油類 (例如大豆油)、中鏈烷基酸與二醇的酯、辛基-十二烷醇、矽油類、鏈烷烴類、和維生素所組成的群組。

9.根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該微乳液額外地包含至少一種共-界面活性劑。

10.根據申請專利範圍第 1 或 2 項之用途，其中該治療係針對橘皮組織及/或不美感的脂肪組織之局部沉積。

11.根據申請專利範圍第 10 項之用途，其中所治療者為於眼睛周圍、手臂下、頸部和下巴區中及/或於大腿的不美感的脂肪組織之局部沉積。

12.根據申請專利範圍第 1 項之用途，其係用於脂肪組織疾病及/或狀況之治療。

七、指定代表圖

(一)、本案指定代表圖為：無

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無