



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I827577 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：108101232

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 01 月 11 日

(51)Int. Cl.：

A61K33/06 (2006.01)

A61K47/36 (2006.01)

A61P29/00 (2006.01)

A61P25/16 (2006.01)

A61P1/02 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/01/12 美國

62/616,923

(71)申請人：南韓商梅堤梅蒂製藥有限公司 (南韓) METIMEDI PHARMACEUTICALS CO., LTD.

(KR)

南韓

(72)發明人：張宗煥 CHANG, CHONG-HWAN (KR)；鄭勤永 JEONG, KEUN-YEONG (KR)

(74)代理人：劉法正；尹重君

(56)參考文獻：

US 7358277B2

審查人員：周浩宇

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：43 共 103 頁

(54)名稱

治療慢性發炎疾病的方法

(57)摘要

本發明係關於藉由投與乳酸鈣作為活性劑治療有需要之個體的慢性發炎疾病的方法。乳酸鈣可以醫藥、食品或營養組成物形式提供。

The invention relates to method of treating chronic inflammatory diseases in subjects in need thereof by administering calcium lactate as an active agent. The calcium lactate can be provided in a pharmaceutical, food, or nutrient composition.



I827577

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

治療慢性發炎疾病的方法

### 【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES

### 【中文】

本發明係關於藉由投與乳酸鈣作為活性劑治療有需要之個體的慢性發炎疾病的方法。乳酸鈣可以醫藥、食品或營養組成物形式提供。

### 【英文】

The invention relates to method of treating chronic inflammatory diseases in subjects in need thereof by administering calcium lactate as an active agent. The calcium lactate can be provided in a pharmaceutical, food, or nutrient composition.

【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】

治療慢性發炎疾病的方法

### 【英文發明名稱】

METHODS OF TREATING CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES

### 【技術領域】

【0001】 本發明係有關於治療慢性發炎疾病的方法。

### 【先前技術】

發明背景

【0002】 慢性發炎疾病(CID)構成以慢性炎症為特徵、定義為長期且持續的促炎性狀態之病理狀態的基礎(1)。CID包括許多常見及不常見的CID，諸如呼吸道疾病(例如哮喘、慢性阻塞性肺病、肺炎及肺纖維化)(2)、眼部疾病(例如角膜炎及年齡相關性黃斑變性)(3)、自體免疫疾病(4)、腎病(5)、神經退化性疾病(例如阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)、中風、帕金森氏病(Parkinson's disease)及多發性硬化症)(6)、心血管疾病(例如動脈粥樣硬化、動脈硬化及心肌炎)(7)、代謝障礙(例如糖尿病及肥胖症)(8)、肌肉骨骼疾病(例如類風濕性關節炎及骨質疏鬆症)(9, 10)、齒周疾病(例如齒髓炎及齒根骨膜炎)(11)、消化疾病(例如非酒精性脂肪肝病、胃腸炎及慢性發炎性腸病)(12)及皮膚病症(例如牛皮癬及異位性皮膚炎)(13, 14)。

【0003】 一項流行病學研究表明，CID為全世界死亡

的主要原因且經過去三十年一直在增加。據估計，到2030年，美國將有1.71億人受CID的影響(15)。有各種類型之治療炎症的抗炎藥，諸如阿司匹林、抗組織胺、COX-2抑制劑、皮質類固醇及非類固醇抗炎藥(NSAID)。然而，由於副作用及時間效力，此類現有藥物之長期投與存在限制。

## 【發明內容】

### 發明概要

【0004】 本文揭露一種治療慢性發炎疾病之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0005】 本文揭露一種治療阿茲海默氏病、帕金森氏病、動脈粥樣硬化及/或中風之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0006】 亦揭露一種治療多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及/或類風濕性關節炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。在一些實施例中，該方法用於治療NAFLD，且NAFLD為非酒精性脂肪變性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis，NASH)。

【0007】 亦揭露一種治療齒髓炎及/或齒根骨膜炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0008】 進一步揭露一種治療發炎性腸病(IBD)之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。在一些實施例中，IBD為克羅恩氏病(Crohn's disease)

或潰瘍性結腸炎(ulcerative colitis)。

【0009】 進一步揭露一種治療脊髓損傷、腦出血、心肌梗塞、角膜炎及/或糖尿病性視網膜病變之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0010】 本文揭露一種治療哮喘、肺纖維化、肥胖症、胃腸炎、慢性發炎性腸病及/或異位性皮膚炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。本文亦揭露一種治療慢性阻塞性肺病、肺炎、角膜炎、動脈粥樣硬化、動脈硬化、心肌炎、糖尿病、類風濕性關節炎、齒髓炎、齒根骨膜炎及/或牛皮癬之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。本文亦揭露一種治療阿茲海默氏病、中風、帕金森氏病、多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病、敗血症及/或骨質疏鬆症之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0011】 在一些實施例中，乳酸鈣係以包含醫藥學上可接受之載劑、賦形劑及/或稀釋劑的醫藥組成物投與。在一些實施例中，將醫藥組成物調配成液體、散劑、氣溶膠、注射液、輸液、貼劑、膠囊、丸劑、錠劑、藥物儲槽(depot)或栓劑。

【0012】 在一些實施例中，醫藥組成物包含治療有效量之乳酸鈣作為活性劑及醫藥學上可接受之多醣、聚合物、脂質或其組合。在一些實施例中，醫藥組成物包含乳酸鈣及多醣。在一些實施例中，乳酸鈣與多醣之重量比為

1:<0.2至1:5。在一些實施例中，乳酸鈣與多醣之重量比為1:<0.2。在一些實施例中，乳酸鈣與多醣之重量比為1:0.2至1:5。

**【0013】** 在一些實施例中，醫藥組成物進一步包含聚合物及/或脂質。在一些實施例中，醫藥組成物進一步包含聚合物及脂質，其中聚合物與脂質之重量比為1:0.1至1:50。在一些實施例中，乳酸鈣與聚合物及/或脂質之重量比為至少1:5。在一些實施例中，乳酸鈣與聚合物及/或脂質之重量比為1:5至1:30。

**【0014】** 在一些實施例中，醫藥組成物包含乳酸鈣及聚合物及/或脂質。在一些實施例中，醫藥組成物包含聚合物及脂質，其中聚合物與脂質之重量比為1:0.1至1:50。在一些實施例中，乳酸鈣與聚合物及/或脂質之重量比為至少1:5。在一些實施例中，乳酸鈣與聚合物及/或脂質之重量比為1:5至1:30。

**【0015】** 在一些實施例中，組成物為短效的。在一些實施例中，組成物為長效的。在一些實施例中，組成物為可注射組成物。

**【0016】** 在一些實施例中，多醣為纖維素衍生物、果膠、玻尿酸、澱粉、瓜爾膠、聚葡萄糖胺糖、明膠、膠原蛋白、海藻酸鹽、海藻酸或其組合。

**【0017】** 在一些實施例中，聚合物為泊洛沙姆(poloxamer)、聚乙烯吡咯啉酮(polyvinylpyrrolidone)、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇酸乳酸(polyglycolic lactic

acid，PLGA)或其組合。

【0018】 在一些實施例中，脂質為單脂肪酸甘油酯或三脂肪酸甘油酯或聚乙二醇、植物油之聚乙二醇酯、脂肪酸丙二醇酯、芝麻油、大豆油、蓖麻油、玉米油、棕櫚油、花生油、可可油、棉籽油、葵花籽油、紅花油、杏仁油、橄欖油、氫化油、油酸、次亞麻油酸(linolenic acid)、亞麻油酸(linoleic acid)、棕櫚酸、棕櫚油酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸、癸酸(capric acid)、辛酸(caprylic acid)、月桂酸、硬脂酸、油酸乙酯、棕櫚酸異丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、棕櫚酸鯨蠟酯、月桂醇、油醇、鯨蠟醇、硬脂醇或其組合。

【0019】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，6小時後釋放至少約40%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0020】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，12小時後釋放至少約60%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0021】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，24小時後釋放至少約80%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水

性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0022】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，48小時後釋放至少約90%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0023】 在一些實施例中，其中在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，24小時後釋放少於約40%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0024】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，48小時後釋放少於約60%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0025】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，72小時後釋放少於約80%之活性劑，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0026】 在一些實施例中，在將醫藥組成物置於活體外溶解測試中時，144小時後釋放少於約90%之活性劑，

該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml 水性介質中在37°C下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法。

【0027】 在一些實施例中，醫藥組成物包含在無菌玻璃或聚烯烴容器中。

【0028】 在一些實施例中，乳酸鈣包覆有醫藥學上可接受之腸溶包衣。在一些實施例中，腸溶包衣包含經丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、蟲膠、甲基丙烯酸及其酯之聚合物，或其組合。在一些實施例中，乳酸鈣與腸溶包衣之重量比為10:0.5至1:1.5。在一些實施例中，在包含37°C下槳速為50 rpm之USP槳法的活體外溶解測試中，當將組成物置於0.1 HCl中120分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至pH 6.8時，30分鐘後釋放少於約20%之活性劑。在一些實施例中，在包含37°C下槳速為50 rpm之USP槳法的活體外溶解測試中，當將組成物置於0.1 N HCl中120分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至pH 6.8時，60分鐘後釋放少於30%之活性劑。在一些實施例中，在包含37°C下槳速為50 rpm之USP槳法的活體外溶解測試中，當將組成物置於0.1 N HCl中120分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至pH 6.8時，120分鐘後釋放少於50%之活性劑。在一些實施例中，在包含37°C下槳速為50 rpm之USP槳法的活體外溶解測試中，當將組成物置於0.1 N HCl中120分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至pH 6.8時，120分鐘後釋放少

於10%之活性劑。

【0029】 在一些實施例中，乳酸鈣在包含乳酸鈣之食品或營養組成物中提供。在一些實施例中，食品或營養組成物為可注射的營養補充劑。

【圖式簡單說明】

【0030】 圖1. 人類白血病單核球活體外實驗。西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在THP-1細胞(人類白血病單核球)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0031】 圖2. 分化成巨噬細胞之人類白血病單核球的活體外實驗。西方墨點法結果表明，在常氧及低氧條件下，在用PMA (佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯)分化之THP-1細胞(M0巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0032】 圖3. 西方墨點法結果表明，在常氧及低氧條件下，在用干擾素 $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )及脂多醣(LPS)分化之THP-1細胞(M1巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0033】 圖4. 西方墨點法結果表明，在常氧及低氧條件下，在用介白素-4 (IL-4)及介白素-10 (IL-10)分化之THP-1細胞(M2巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0034】 圖5. 肝纖維化活體外實驗。西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在LX-2細胞(人類肝臟星狀細胞)

中，低氧誘導因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0035】 圖6. 人類內皮細胞活體外實驗。西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在人類臍靜脈內皮細胞中，低氧介導因子(乳酸脫氫酶A)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0036】 圖7. 人類成纖維細胞活體外實驗。西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在CCD-18Co細胞(人類結腸成纖維細胞)中，乳酸脫氫酶B藉由2.5 mM乳酸鈣處理而增加。

【0037】 圖8. 腦CID活體外實驗。西方墨點法結果表明，在常氧及低氧條件下，在SK-N-SH細胞(腦上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0038】 圖9. 肝臟CID活體外實驗。西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在HepG2細胞(肝臟上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而變化。

【0039】 圖10. 西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在HepG2細胞(肝臟上皮細胞)中，發炎因子(TLR-4)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0040】 圖11. 眼CID活體外實驗。西方墨點法結果表明，在常氧及低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0041】 圖12. 免疫細胞化學結果表明，在低氧條件

下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，低氧誘導因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0042】 圖13. 免疫細胞化學結果表明，在常氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，乳酸脫氫酶A藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0043】 圖14. 免疫細胞化學結果表明，在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(核因子- $\kappa$ B)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0044】 圖15. 免疫細胞化學結果表明，在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(toll樣受體4)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0045】 圖16. 免疫細胞化學結果表明，在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，乳酸脫氫酶B藉由2.5 mM乳酸鈣處理而增加。

【0046】 圖17. 免疫細胞化學結果表明，在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，脈絡膜小疣標記物(載脂蛋白E)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0047】 圖18. 西方墨點法結果表明，在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0048】 圖19. 相片顯示，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中藉由2.5 mM乳酸鈣處理不存在毒性。乳酸鈣僅在受傷上皮細胞之代謝變化中起重要作用。

【0049】 圖20. 肝臟CID (NASH)活體內實驗。血液

化學結果表明，血清天冬胺酸轉胺酶(AST)及丙胺酸轉胺酶(ALT)藉由2 mg/kg乳酸鈣處理而顯著減少。與甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)相比，\*\* $P < 0.001$ 。結果為平均值 $\pm$ SD。

【0050】 圖21. 免疫組織化學結果顯示，藉由2 mg/kg乳酸鈣處理預防肝臟脂肪變性。

【0051】 圖22. 免疫組織化學結果顯示，與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中不存在脂滴，而其存在於甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中。

【0052】 圖23. 免疫組織化學結果顯示，與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中之免疫細胞浸潤減少，而免疫細胞浸潤在甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中增加。

【0053】 圖24. 免疫組織化學結果顯示，與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中不存在纖維化，而其存在於甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中。

【0054】 圖25. 西方墨點法結果表明，在視網膜色素上皮組織中，發炎因子(NF- $\kappa$ B)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0055】 圖26. 免疫組織化學結果顯示，藉由用2.5 mM乳酸鈣處理，視網膜色素上皮細胞以與正常對照上皮細胞類似的形態恢復。

【0056】 圖27. 藉由雷射誘導之年齡相關性黃斑變性(AMD)，在平面封固物之脈絡膜之內層病變的螢光影像。

【0057】 圖28. 藉由雷射誘導之年齡相關性黃斑變性(AMD)，在平面封固物之脈絡膜之內層病變及新血管生成的螢光影像。

【0058】 圖29. 建立阿茲海默氏病及中風之實驗方案。

【0059】 圖30. 藉由脂多醣(LPS)之腦損傷的代表性影像。對側：正常區域。同側：LPS注射。

【0060】 圖31. 受損腦組織之恢復及在腦損傷後募集之微神經膠質細胞浸潤的減少。

【0061】 圖32. 建立帕金森氏病之實驗方案。

【0062】 圖33. 藉由用乳酸鈣處理，多巴胺激導性神經元之恢復。

【0063】 圖34. 建立多發性硬化症之實驗方案。

【0064】 圖35. 藉由用乳酸鈣處理，脫髓鞘脊髓之恢復及微神經膠質細胞浸潤之減少。

【0065】 圖36. 主動脈組織之代表性組織學特徵。左側及中側之組織為蘇木精及伊紅(H&E)染色。右側組織為油紅o染色。

【0066】 圖37. 齒周組織之馬森三色染色。

【0067】 圖38. 上齒齦之馬森三色染色。

【0068】 圖39. 足部及膝關節組織之馬森三色染色。

【0069】 圖40. 誘導克羅恩氏病之實驗方案。

【0070】 圖41. 克羅恩氏病之蘇木精及伊紅(H&E)染色的代表性影像。

【0071】 圖42. 誘導結腸炎之實驗方案。

【0072】 圖43. 結腸炎之蘇木精及伊紅(H&E)染色的代表性影像。

### 【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

【0073】 最近，許多研究表明CID與年齡增長有關，且提出慢性炎症與年齡相關之免疫衰老疾病相關(1-29)。經由實質細胞與基質細胞(諸如免疫細胞、內皮細胞及成纖維細胞)之間的複雜相互作用闡明慢性炎症發生。其中，骨髓來源之細胞，諸如單核球及活化的巨噬細胞，鑑定為CID中之主要效應細胞。在用細菌脂多醣、IFN- $\gamma$ 及受損細胞活化後，巨噬細胞經由核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)之轉錄控制產生許多發炎細胞介素且清除內源性及外源性發炎因子。巨噬細胞亦進一步極化為更特化之巨噬細胞亞型。然而，其精細控制之骨髓細胞的分化及活化在慢性炎症中失調。局部組織低氧經由誘導低氧誘導因子(HIF)引起細胞(諸如實質細胞及基質細胞)之代謝變化。HIF，尤其HIF-1，有助於巨噬細胞之異常活化，且為慢性發炎反應之主要促成者。

【0074】 大多數CID之特徵在於炎症。受傷組織變得對血流及氧氣遞送具有抗性，因此變成低氧環境。促炎性介體及低氧條件可經由誘導HIF-1引發血管生成反應。另外，大多數CID存在局部發炎反應，包括呼吸道疾病(例如哮喘、慢性阻塞性肺病、肺炎及肺纖維化)、眼部疾病(例如角膜炎及年齡相關性黃斑變性)、自體免疫疾病、腎病、

神經退化性疾病(例如阿茲海默氏病、中風、帕金森氏病及多發性硬化症)、心血管疾病(例如動脈粥樣硬化、動脈硬化及心肌炎)、代謝障礙(例如糖尿病及肥胖症)、肌肉骨骼疾病(例如類風濕性關節炎及骨質疏鬆症)、齒周疾病(例如齒髓炎及齒根骨膜炎)、消化疾病(例如非酒精性脂肪肝病、胃腸炎及慢性發炎性腸病)及皮膚病症(例如牛皮癬及異位性皮膚炎)。在炎症期間，血管滲透性增加，且在趨化因子之吸引下募集單核球、巨噬細胞、血小板、肥大細胞及其他白血球。因此，本文揭露藉由靶向HIF-1、NF-kB及乳酸脫氫酶(LAD) A及B來靶向巨噬細胞活化及細胞外基質降解調節的治療方法。

#### 治療方法

**【0075】** 本文揭露一種治療慢性發炎疾病之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

**【0076】** 本文揭露一種治療阿茲海默氏病、帕金森氏病、動脈粥樣硬化及/或中風之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

**【0077】** 亦揭露一種治療多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及/或類風濕性關節炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。在一些實施例中，該方法用於治療NAFLD，且NAFLD為非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)。

**【0078】** 亦揭露一種治療齒髓炎及/或齒根骨膜炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸

鈣。

【0079】 進一步揭露一種治療發炎性腸病(IBD)之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。在一些實施例中，IBD為克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎。

【0080】 進一步揭露一種治療脊髓損傷、腦出血、心肌梗塞、角膜炎及/或糖尿病性視網膜病變之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0081】 本文揭露治療哮喘、肺纖維化、肥胖症、胃腸炎、慢性發炎性腸病及/或異位性皮膚炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。本文亦揭露治療慢性阻塞性肺病、肺炎、角膜炎、動脈粥樣硬化、動脈硬化、心肌炎、糖尿病、類風濕性關節炎、齒髓炎、齒根骨膜炎及/或牛皮癬之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。本文亦揭露治療阿茲海默氏病、中風、帕金森氏病、多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病及/或敗血症之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0082】 本文亦揭露治療骨質疏鬆症之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

【0083】 術語「個體」或「患者」涵蓋哺乳動物及非哺乳動物。哺乳動物之實例包括但不限於哺乳動物類之任何成員：人類，非人類靈長類動物，諸如黑猩猩以及其他猿及猴物種；農畜，諸如牛、馬、綿羊、山羊、豬；家畜，諸如兔子、狗及貓；實驗室動物，包括嚙齒動物，諸如大

鼠、小鼠及天竺鼠，及其類似物。非哺乳動物之實例包括但不限於鳥類、魚類及其類似物。在本文所提供之方法及組成物的一些實施例中，哺乳動物為人類或非人類。

**【0084】** 如本文所用，藉由投與醫藥組成物「治療 (treat/treating/treatment)」本文所揭露之一或多種疾病係指本文所揭露之一或多種疾病的嚴重性減輕、發作延緩、進展減緩或持續時間縮短中之任一者，無論是永久的或臨時的、持久的或短暫的，可歸因於組成物之投與或與組成物之投與相關。

**【0085】** 如本文所用，術語「共同投與」或其類似術語意欲涵蓋向單一患者投與所選擇之二種或更多種活性劑，且意欲包括藉由相同或不同投與途徑或在相同或不同時間投與藥劑的治療方案。

**【0086】** 本揭露內容之醫藥組成物可以治療有效量投與，且如本文所用，術語「有效量」或治療有效量」係指足以以適用於任何醫學治療或預防之合理的益處/風險比治療或預防疾病的量。有效劑量水準可視疾病之嚴重程度、藥物或活性劑之活性、患者之年齡、體重、健康狀況及性別、對藥物之敏感性、本揭露內容之組成物之投與時間、投與途徑及排泄率、治療持續時間、與本揭露內容之組成物同時或組合使用之藥物以及醫學領域中已知的其他因素而確定。本揭露內容之醫藥組成物可單獨或與其他公知藥物或已知用於治療本文所揭露之一或多種疾病的已知組分組合投與。考慮到所有上述因素，重要的是以可表現

出最大效應而不引起副作用的最小量投與組成物。

【0087】 可投與本揭露內容之醫藥組成物，以使得乳酸鈣之每日劑量為例如約10 mg/kg至約1,000 mg/kg、約10 mg/kg至約500 mg/kg、約10 mg/kg至約250 mg/kg、約10 mg/kg至約200 mg/kg、約10 mg/kg至約100 mg/kg、約1 mg/kg至約100 mg/kg、約1 mg/kg至約75 mg/kg、約1 mg/kg至約50 mg/kg、約1 mg/kg至約25 mg/kg或約1 mg/kg至約10 mg/kg。組成物之投與頻率可為但不特別限於一天一次、二次、三次、四次等分次劑量。

【0088】 可投與含有本文所述之化合物的組成物以用於預防性及/或治療性治療。在治療性應用中，將組成物以足以治癒或至少部分遏制疾病或病況之症狀之量投與已罹患疾病或病況的患者。對此用途有效之量將視疾病或病況之嚴重程度及病程、先前療法、患者之健康狀況、體重及對藥物之反應以及治療醫師之判斷而定。藉由常規實驗(包括但不限於劑量遞增臨床試驗)確定此類治療有效量被認為完全屬於此項技術之技能。

【0089】 在預防性應用中，將含有本文所述之活性劑的組成物投與易患本文所揭露之一或多種疾病或以其他方式處於該一或多種疾病風險下之患者。此類量定義為「預防有效量或劑量」。在此用途中，精確量亦視患者之健康狀況、體重及其類似因素而定。藉由常規實驗(例如劑量遞增臨床試驗)確定此類預防有效量被認為完全屬於此項技術之技能。當用於患者時，此用途之有效量將視疾病、病

症或病況之嚴重程度及病程、先前療法、患者之健康狀況及對藥物之反應以及治療醫師之判斷而定。

【0090】 在患者之病況未改良之情況下，根據醫生之判斷，本文所述之活性劑的投與可為長期投與，亦即持續延長的時間段，包括在患者壽命之整個持續時間內，以改善或以其他方式控制或限制患者之疾病或病況的症狀。

【0091】 對應於此類量之給定藥劑之量將視諸如特定化合物、疾病狀況及其嚴重程度、需要治療之個體或宿主的特性(例如年齡、體重、性別等)而變化，但仍可根據圍繞病例之特定情形以此項技術中已知的方式常規確定，該等特定情形包括例如所投與之特定藥劑、投與途徑、所治療之病況及所治療之個體或宿主。

#### 醫藥組成物

【0092】 術語「乳酸鈣」係指一種乳酸金屬鹽，其可例如以由 $C_6H_{10}O_6Ca \cdot 5H_2O$ 表示之水合物的形式存在，其中鈣離子與乳酸根鍵結。乳酸鈣在室溫下可呈白色粉末或顆粒形式，或在 $120^\circ C$ 加熱條件下無水，且具有5% (w/v)之溶解度。

【0093】 可將乳酸鈣調配成醫藥組成物，用於治療本文所揭露之一或多種疾病。

【0094】 在各種實施例中，本發明提供一種醫藥組成物，其包含治療有效量之乳酸鈣作為活性劑用於治療本文所揭露之一或多種疾病及醫藥學上可接受之多醣、聚合物、脂質或其組合。在一些實施例中，醫藥組成物包含乳

酸鈣及多醣。

【0095】 在一些實施例中，本發明提供乳酸鈣之腸溶包衣，使得當活性劑經口投與時，活性劑在到達大腸之前被保護而免受胃之酸性環境影響且在小腸中被吸收。

【0096】 本發明亦提供包含乳酸鈣之短效及長效醫藥組成物。在一些實施例中，長效組成物包含乳酸鈣，其包覆有至少一種腸溶包衣材料，諸如羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、蟲膠及甲基丙烯酸及其酯之聚合物。

【0097】 本發明之醫藥組成物可調配成用於經口投與之醫藥製劑。製劑之實例包括散劑、錠劑、膠囊、顆粒劑或糖漿、錠劑及膠囊，但不限於此。

【0098】 本文亦提供水凝膠調配物，特別是甲基纖維素、泊洛沙姆、果膠及海藻酸鹽水凝膠，其可活體外保持溶液或奈米粒子形式，且可在注射至體內時形成凝膠且允許乳酸鈣之持續釋放。藉由增加藥物與水凝膠之間的相互作用或藉由延遲藥物在水凝膠中之擴散，改良相對短的藥物釋放時間，亦即水凝膠之弱點。

【0099】 乳酸鈣與多醣之重量比可為例如 1:<0.2 至 1:5、1:0.01 至 1:5、1:0.05 至 1:5 或 1:0.1 至 1:5。乳酸鈣與多醣之重量比可為 1:<0.2。乳酸鈣與多醣之重量比可為 1:0.2 至 1:5。

【0100】 在一些實施例中，醫藥組成物進一步包含聚

合物或脂質。乳酸鈣與聚合物或脂質之重量比可為至少1:5。乳酸鈣與聚合物或脂質之重量比可為1:5至1:30，例如1:5至1:30、1:5至1:20、1:5至1:10、1:10至1:30、1:10至1:20或1:20至1:30。

【0101】在一些實施例中，醫藥組成物進一步包含聚合物及脂質。乳酸鈣與聚合物及脂質之重量比可為至少1:5。乳酸鈣與聚合物及脂質之重量比可為1:5至1:30，例如1:5至1:30、1:5至1:20、1:5至1:10、1:10至1:30、1:10至1:20或1:20至1:30。

【0102】在一些實施例中，醫藥組成物包含乳酸鈣及聚合物或脂質。乳酸鈣與聚合物或脂質之重量比可為至少1:5。乳酸鈣與聚合物或脂質之重量比可為1:5至1:30。乳酸鈣與聚合物或脂質之重量比可為1:5至1:30，例如1:5至1:30、1:5至1:20、1:5至1:10、1:10至1:30、1:10至1:20或1:20至1:30。

【0103】在一些實施例中，醫藥組成物包含乳酸鈣及聚合物及脂質。乳酸鈣與聚合物及脂質之重量比可為至少1:5。乳酸鈣與聚合物及脂質之重量比可為1:5至1:30。乳酸鈣與聚合物及脂質之重量比可為1:5至1:30，例如1:5至1:30、1:5至1:20、1:5至1:10、1:10至1:30、1:10至1:20或1:20至1:30。

【0104】在一些實施例中，聚合物與脂質之重量比可為1:0.1至1:50、1:0.1至1:20、1:0.1至1:10、1:0.1至1:5、1:0.1至1:2、1:0.1至1:1、1:0.1至0.5或1:0.1至1:0.2。

【0105】適用於組成物之多糖可為纖維素衍生物(例如羧甲基纖維素(CMC)、乙基纖維素(EC)、羥丙基甲基纖維素(HPMC)、甲基纖維素(MC))、果膠、玻尿酸、澱粉、瓜爾膠、聚葡萄糖胺糖、明膠、膠原蛋白、海藻酸鹽、海藻酸或其組合。

【0106】適用於組成物之聚合物可為泊洛沙姆、聚乙炔吡咯啉酮、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇酸乳酸(PLGA)或其組合。

【0107】適用於組成物之脂質可為單脂肪酸甘油酯或三脂肪酸甘油酯或聚乙二醇、植物油之聚乙二醇酯、脂肪酸丙二醇酯、芝麻油、大豆油、蓖麻油、玉米油、棕櫚油、花生油、可可油、棉籽油、葵花籽油、紅花油、杏仁油、橄欖油、氫化油、油酸、次亞麻油酸、亞麻油酸、棕櫚酸、棕櫚油酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸、癸酸、辛酸、月桂酸、硬脂酸、油酸乙酯、棕櫚酸異丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、棕櫚酸乙醯基酯、月桂醇、油醇、乙醯醇、硬脂醇或其組合。

【0108】本發明進一步關於醫藥組成物，其包含治療有效量之乳酸鈣作為活性劑，用於治療本文所揭露之一或多種疾病，其中乳酸鈣包覆有醫藥學上可接受之腸溶包衣。在一些實施例中，腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、蟲膠、甲基丙烯酸及其酯之聚合物，或其組合。在一些實施例中，乳酸鈣與腸

溶包衣之重量比為10:0.5至10:15、10:0.5至1:1、10:0.5至10:5、10:0.5至10:3、10:0.5至10:2、10:0.5至10:1、10:0.5至1:0.8。

【0109】如本文所用，「醫藥學上可接受」係指諸如載劑或稀釋劑之材料，其不會消除化合物之生物活性或特性，且相對無毒，亦即該材料可投與個體而不會引起不期望的生物效應或以有害的方式與含有其之組成物的任何組分相互作用。

【0110】如本文所用，醫藥組成物係指乳酸鈣與醫藥學上可接受之其他化學組分的混合物，諸如但不限於載劑、穩定劑、稀釋劑、崩解劑、懸浮劑、增稠劑、黏合劑、抗微生物劑、抗微生物防腐劑、抗氧化劑及/或緩衝劑。醫藥組成物有助於向個體投與乳酸鈣。

【0111】如本文所用，術語「載劑」係指促進化合物併入細胞或組織中的相對無毒之化合物或藥劑。術語「稀釋劑」係指用於在遞送之前稀釋感興趣之化合物的化合物。稀釋劑亦可用於穩定化合物，因為其可提供更穩定的環境。醫藥學上可接受之添加劑包括此項技術中熟知的稀釋劑、黏合劑、增溶劑、溶解度增強劑、成孔劑、滲透劑、氣體形成劑、潤滑劑及流化劑，但不限於此。

【0112】稀釋劑可包括乳糖、果糖、右旋糖、蔗糖、麥芽糖、微晶纖維素、澱粉、磷酸氫鈣、甘露糖醇或其混合物，但不限於此。其他稀釋劑包括微晶纖維素、乳糖、甘露糖醇、磷酸鈣及其類似物。

【0113】黏合劑之實例可包括聚維酮、羥丙基纖維素、聚乙烯醇、羥丙基甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉及其。

【0114】增溶劑包括界面活性劑、環糊精及其衍生物、親脂性物質或其混合物，但不限於此。

【0115】界面活性劑包括水溶性或水分散性非離子、非極性非離子、陰離子、陽離子、兩性或離子表面活性劑或其混合物，但不限於此。

【0116】崩解劑之實例包括交聯聚維酮、交聯羧甲纖維素鈉、乙醇酸澱粉鈉，且潤滑劑之實例包括硬脂酸鎂、硬脂酸鈣、硬脂醯反丁烯二酸鈉及其。

【0117】本發明之醫藥組成物可進一步包括抗微生物劑，諸如苯甲醇、氯丁醇、苯乙醇、乙酸苯基汞、山梨酸鉀及山梨酸。抗真菌劑包括諸如苯甲酸、對羥基苯甲酸丁酯、對羥基苯甲酸乙酯、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯及苯甲酸鈉之化合物。

【0118】抗微生物防腐劑可添加至本發明之醫藥組成物中，以保護其免受潛在有害微生物之生長，該等微生物通常侵入水相，但在一些情況下亦可在組成物之油相中生長。因此，需要具有水溶性及脂溶性之防腐劑。適合之抗微生物防腐劑包括例如對羥基苯甲酸之烷基酯、丙酸鹽、苯氧基乙醇、對羥基苯甲酸甲酯鈉、對羥基苯甲酸丙酯鈉、脫氫乙酸鈉、氯化苯甲烴銨、苧索氯銨、苯甲醇、乙內醯脲衍生物、四級銨化合物及陽離子聚合物、咪唑啉基脲、重氮利定脲及乙二胺四乙酸三鈉(EDTA)。

【0119】可添加抗氧化劑以保護醫藥組成物之所有成分免受組成物本身或使用環境中存在之氧化劑的損害或降解，例如阿諾克索默(anoxomer)、抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基甲氧苯、丁基化羥基甲苯、次磷酸、偏亞硫酸氫鉀、沒食子酸丙基辛基酯及沒食子酸十二烷基酯、偏亞硫酸氫鈉、二氧化硫及生育酚。

【0120】一旦建立，緩衝劑可用於維持醫藥組成物之所需pH，以免受外部藥劑及組成物組分之平衡移動的影響。

【0121】本文所述之醫藥組成物可按照此項技術中已知的技術製備，例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第十九版 (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995) ; Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 1975 ; Liberman, H. A. and Lachman, L., 編, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980 ; 及 Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 第七版 (Lippincott Williams & Wilkins 1999)，其以全文引用之方式併入本文中。

【0122】在一些實施例中，本發明之醫藥組成物為短效的。術語「短效」係指當在本文所述之活體外溶解測試中測試時，組成物在48小時內釋放實質上所有活性劑，例如自遞送時間，時間0直至約1小時至約48小時、直至約3

小時至約24小時、直至約6小時至約24小時或直至約12小時至約24小時。

【0123】舉例而言，在將組成物置於活體外溶解測試中時，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法(例如來自Labfine Co., Mumbai, India)，6小時後釋放至少約40%之活性劑，12小時後釋放至少約60%之活性劑，24小時後釋放至少約80%之活性劑，及/或48小時後釋放至少約90%之活性劑。在一些實施例中，在將組成物置於活體外溶解測試中時，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法(例如來自Labfine Co., Mumbai, India)，6小時後釋放至少約40%至約60%之活性劑，12小時後釋放至少約60%至約80%之活性劑，24小時後釋放至少約80%至約90%之活性劑，及/或48小時後釋放至少約90%至約100%之活性劑。

【0124】在一些實施例中，本發明之醫藥組成物為長效的。術語「長效」欲意謂在初始劑量後緩慢釋放活性劑之組成物，例如自遞送時間，時間0直至約48小時至約192小時、直至約72小時至約192小時、直至約96小時至約192小時、直至約120小時至約192小時或直至約144小時至約192小時。

【0125】在一些實施例中，在將組成物置於活體外溶解測試中時，該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為

6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法(例如來自Labfine Co., Mumbai, India), 24小時後釋放少於約40%之活性劑, 48小時後釋放少於約60%之活性劑, 72小時後釋放少於約80%之活性劑, 144小時後釋放少於約90%之活性劑。在一些實施例中, 在將組成物置於活體外溶解測試中時, 該活體外溶解測試包含在300 rpm下於pH為6.8之200 ml水性介質中在37℃下使用孔徑為45 μm之耐綸過濾器的溶離測試方法(例如來自Labfine Co., Mumbai, India), 24小時後釋放約20%至約50%之活性劑, 24小時後釋放約20%至約40%之活性劑, 48小時後釋放約40%至約70%之活性劑, 48小時後釋放約40%至約60%之活性劑, 72小時後釋放約40%至約80%之活性劑, 72小時後釋放約50%至約80%之活性劑, 144小時後釋放約60%至約90%之活性劑, 或144小時後釋放約70%至約90%之活性劑。

【0126】在一些實施例中, 在將組成物置於活體外溶解測試中時, 該活體外溶解測試包含在37℃下槳速為50 rpm之USP槳法, 當將組成物置於0.1 HCl中120分鐘, 隨後用磷酸鹽緩衝液調節至pH 6.8時, 30分鐘後釋放少於約20%之活性劑, 60分鐘後釋放少於30%之活性劑, 120分鐘後釋放少於50%之活性劑, 及/或120分鐘後釋放少於10%之活性劑。

【0127】在一些實施例中, 本發明之醫藥組成物為可注射之劑型。對於非經腸注射, 適當調配物可包括水性或

非水性溶液，較佳具有生理學上相容之載劑。

【0128】用於非經腸投與之醫藥調配物包括呈水溶性形式之活性化合物的水溶液。另外，活性劑之懸浮液可製備為適當的油性注射懸浮液。適合之脂質或親脂性載劑包括脂肪油，諸如芝麻油；或合成脂肪酸酯，諸如油酸乙酯或甘油三酯；或脂質體。脂質為單脂肪酸甘油酯或三脂肪酸甘油酯或聚乙二醇、植物油之聚乙二醇酯、脂肪酸丙二醇酯、芝麻油、大豆油、蓖麻油、玉米油、棕櫚油、花生油、可可油、棉籽油、葵花籽油、紅花油、杏仁油、橄欖油、氫化油、油酸、次亞麻油酸、亞麻油酸、棕櫚酸、棕櫚油酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸、癸酸、辛酸、月桂酸、硬脂酸、油酸乙酯、棕櫚酸異丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、棕櫚酸鯨蠟酯、月桂醇、油醇、鯨蠟醇、硬脂醇或其組合。

【0129】自醫學應用水凝膠以來，已在許多領域開發及研究許多水凝膠，包括醫學、醫藥及化妝品行業。雖然水凝膠一般為生物相容的，但其具有各種限制藥物遞送之問題，且已進行各種努力來解決該等問題。水凝膠係由親水性聚合物網構成之三維結構。超過90%之組分由水構成。由於水凝膠與生物組織之相似性，諸如高水分含量、多孔結構、相對柔軟的特性及生物相容性，因此在生物醫學領域中已積極研究水凝膠。視用作主鏈之聚合物的種類或採用的交聯方法而定，水凝膠可展現各種特性。當使用聚丙烯酸系聚合物之聚合物或諸如聚乙醇醇之合成化合物

時，生物相容性低，但化學修飾容易，因此工程應用非常容易。另一方面，當使用天然化合物，尤其果膠、海藻酸鹽、膠原蛋白、纖維蛋白及玻尿酸作為主鏈時，化學修飾困難。儘管如此，但使用此等生物衍生組分之材料具有優點，因為其適用於臨床應用，且在移植時幾乎沒有副作用，諸如免疫炎症反應。

【0130】其為影響水凝膠特性以及所用聚合物類型之交聯方法。即使使用相同的聚合物作為主鏈，若交聯方法不同，則亦可獲得具有完全不同特徵之水凝膠。交聯水凝膠之方法可大致分成物理及化學方法。物理交聯方法包括離子相互作用、疏水性相互作用、氫鍵及藉由結構纏結之可逆交聯。此等交聯方法可容易誘導三維網狀結構之形成，而無需單獨的化學添加劑或複雜的方法。另一方面，與物理交聯方法相比，化學交聯方法通常形成共價鍵，從而產生不可逆且穩定的網狀物。具有優異生物相容性及各種物理化學特性之水凝膠已在諸如藥物遞送及組織工程改造之生物醫學領域中廣泛研究。大多數水凝膠由於其高含水量而表現出比其他藥物遞送系統更短的藥物釋放時間，且需要開發具有更長藥物釋放時間的系統。

【0131】在一些實施例中，本發明之醫藥組成物為經口劑型。對於經口投與，本文所述之化合物可藉由將活性劑與此項技術中熟知的醫藥學上可接受之載劑或賦形劑組合而容易地調配。此類載劑使得本文所述之活性劑能夠調配為錠劑、散劑、丸劑、糖衣藥丸、膠囊、液體、凝膠、

糖漿、醃劑、漿液、懸浮液及其類似物，用於待治療之患者口服攝取。

【0132】經口使用之醫藥製劑可藉由將一或多種固體載劑與本文所述之化合物混合，任選地研磨所得混合物，且必要時在添加適合之助劑後加工顆粒混合物以獲得錠劑或糖衣藥丸核心來獲得。適合之賦形劑包括但不限於填充劑，諸如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇；纖維素製劑，諸如：玉米澱粉、小麥澱粉、大米澱粉、馬鈴薯澱粉、明膠、黃蓍膠、甲基纖維素、微晶纖維素、羥丙基甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉；或其他，諸如：聚乙烯吡咯啉酮(PVP或聚維酮)或磷酸鈣。若需要，可添加崩解劑，諸如交聯之交聯羧甲纖維素鈉、聚乙烯吡咯啉酮、瓊脂或海藻酸或其鹽，諸如海藻酸鈉。

【0133】糖衣藥丸核心具有適合之包衣。出於此目的，可使用濃縮糖溶液，其可任選地含有阿拉伯膠、滑石、聚乙烯吡咯啉酮、卡波普凝膠(carbopol gel)、聚乙二醇及/或二氧化鈦、漆溶液及適合之有機溶劑或溶劑混合物。可將染料或顏料添加至錠劑或糖衣藥丸包衣中以用於鑑定或表徵活性化合物劑量之不同組合。

【0134】醫藥組成物可使用一或多種醫藥學上可接受之載劑以習知方式調配，該等載劑包含賦形劑及助劑，其有助於將活性劑加工成可在醫藥學上使用之製劑。適當調配物視所選擇之投與途徑而定。可相應地且如此項技術中所理解地使用任何熟知的技術。本文所述之醫藥組成物

可以習知方式製造，諸如僅舉例而言，藉助於習知混合、溶解、造粒、製糖衣、水磨、乳化、囊封、包覆或壓縮方法。

【0135】水性懸浮液亦可含有一或多種聚合物作為懸浮劑。聚合物可為泊洛沙姆、聚乙烯吡咯啉酮、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇酸乳酸(PLGA)或其組合。其他有用的聚合物包括水溶性聚合物，諸如纖維素聚合物，例如羥丙基甲基纖維素；及水不溶性聚合物，諸如交聯的含羧基聚合物。有用的組成物亦可包括黏膜黏附聚合物，其選自例如羧甲基纖維素、卡波姆(carbomer，丙烯酸聚合物)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚丙烯醯胺、聚卡波非(polycarbophil)、丙烯酸/丙烯酸丁酯共聚物、海藻酸鈉及葡聚糖。

【0136】在一些實施例中，提供包含乳酸鈣及醫藥學上可接受之腸溶包衣的醫藥劑型，以控制活性劑之釋放。在一些實施例中，包衣為薄膜，且在另一個實施例中，其為膜。腸溶包衣，例如薄膜或膜，可用以延緩釋放直至胃之後且保護活性劑免受胃液影響。腸溶包衣可包含一或多種較佳具有聚合性質的物質(例如甲基丙烯酸酯等；多糖等，如下文更詳細地描述)或多於一種此類物質之組合，任選地包括其他賦形劑，諸如塑化劑。在一些實施例中，腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、蟲膠、甲基丙烯酸及其酯之聚合物，或其組合。在本發明之一些實施例中，組成物包含形成水凝膠之聚合

物及能夠實現活性劑釋放之所需延遲(或其他改變)的其他聚合物。

【0137】在用於口服使用之錠劑的情況下，常用載劑包括乳糖及玉米澱粉。通常亦添加潤滑劑，諸如硬脂酸鎂。對於以膠囊形式經口投與，有用的稀釋劑包括乳糖及乾燥玉米澱粉。

【0138】無菌可注射製劑亦可為在無毒的非經腸可接受之載劑諸如脂質中之無菌可注射懸浮液。

【0139】包含於醫藥組成物中之乳酸鈣的量可為但不限於以最終組成物之總重量計，1 wt%至50 wt%、1 wt%至40 wt%、1 wt%至35 wt%、1 wt%至30 wt%、1 wt%至20 wt%、1 wt%至15 wt%或1 wt%至10 wt%。單劑量醫藥組成物中包括之乳酸鈣的濃度可為但不限於2.5 mM至100 mM、2.5 mM至50 mM、2.5 mM至25 mM、5 mM至100 mM、5 mM至50 mM、5 mM至25 mM、10 mM至100 mM、10 mM至50 mM或10 mM至25 mM。

【0140】固體口服醫藥組成物可藉由習知技術製備，諸如乾式造粒、直接壓錠、濕式造粒、擠出滾圓、熔融造粒或壓縮包衣，但不限於此。包衣可如下所述施用且可在厚度及密度方面變化。包衣之量由添加至本發明之乾燥組成物(例如含有乳酸鈣之珠粒或核心)中之額外重量限定。重量增加可在0.1%至50%、1%至20%、1%至15%、3%至10%、5%至12%或8%至12%之範圍內。

【0141】包衣方法可藉由任何適合的手段進行，諸如

藉由使用包衣機，其將聚合物包衣之溶液(尤其如上所述)施用於組成物。用於包衣之聚合物由製造商提供直接使用的現成溶液，或可在使用之前按照製造商之說明書製造。

### 單位劑量及套組

**【0142】**術語「單位劑型」係指適合作為單一劑量之物理離散單位，各單位含有預定量之活性成分，與適合之醫藥賦形劑結合，在整個給藥方案中使用一或多個單位以產生所期望之治療效果，例如治療本文所揭露之一或多種疾病。

**【0143】**本文所述之醫藥組成物可呈適於單次投與精確劑量之單位劑型。在單位劑型中，將調配物分成含有適量一或多種活性劑的單位劑量。單位劑量可呈含有離散量調配物之封裝形式。非限制性實例為封裝錠劑或膠囊，以及小瓶或安瓿中之散劑。水性懸浮液組成物可封裝於不可再封閉之單劑量容器中。或者，可使用可再封閉之多劑量容器，在此情況下，組成物中通常包括防腐劑。僅舉例而言，用於非經腸注射之調配物可以單位劑型，其包括但不限於安瓿；或在多劑量容器中提供。

**【0144】**適合於乳酸鈣之每日劑量可為每kg體重約1 mg至約1000 mg、約10 mg至約750 mg、約10 mg至約500 mg或約100 mg至500 mg。在包括但不限於人類之較大哺乳動物中，指示的每日劑量在約5 mg至約100,000 mg範圍內，方便地以分次劑量，包括但不限於一日至多四次或

以長效形式投與。適用於投與之單位劑型包括約10 mg至約1000 mg、約100 mg至約1000 mg、約500 mg至約750 mg、約25 mg至約250 mg、約50 mg至約100 mg、約10 mg至約200 mg或約10 mg至約250 mg活性劑。本揭露內容之組成物的投與頻率可為但不特別限於一日一次、二次、三次、四次等分次劑量。任何個別情況中之適當「有效」量可使用諸如劑量遞增研究之技術確定。

【0145】前述範圍僅為提示性的，因為關於個別治療方案之變數的數量很大，且與此等建議值有相當大的偏差並不罕見。此類劑量可視許多變數而改變，該等變數不限於所用化合物之活性、待治療之疾病或病況、投與模式、個別個體之要求、所治療之疾病或病況的嚴重程度及從業者的判斷。

【0146】此類治療方案之毒性及治療功效可藉由細胞培養物或實驗動物中之標準醫藥程序來測定，包括但不限於測定LD<sub>50</sub> (50%群體致死劑量)及ED<sub>50</sub> (50%群體治療有效劑量)。毒性及治療效果之間的劑量比為治療指數，且其可表示為LD<sub>50</sub>與ED<sub>50</sub>之間的比率。呈現高治療指數之化合物較佳。自細胞培養分析及動物研究獲得之資料可用於調配一系列用於人類的劑量。活性劑之劑量較佳處於循環濃度之範圍內，其包括具有最小毒性之ED<sub>50</sub>。劑量可視所用劑型及所用投與途徑而在此範圍內變化。

【0147】根據本發明，醫藥組成物可呈無菌可注射製劑之形式，例如無菌可注射水性或油性懸浮液。本發明之

醫藥組成物可以任何經口可接受之劑型經口投與，包括但不限於膠囊、錠劑、水性懸浮液或溶液。

【0148】本發明亦關於包含本文所揭露之醫藥組成物的無菌玻璃或聚烯烴容器。在一些實施例中，容器為非DEHP (鄰苯二甲酸雙(2-乙基己基)酯(鄰苯二甲酸二-2-乙基己酯，鄰苯二甲酸二乙基己酯，DEHP；鄰苯二甲酸二辛酯，DOP)或非PVP (聚乙烯吡咯啉酮)。

【0149】套組包含適合之容器，諸如盒、單獨的瓶子、袋或安瓿。懸浮液組成物可封裝於不可再封閉之單劑量容器或可再封閉之多劑量容器。

【0150】以全文引用之方式併入本文中的是2017年12月21日公開的US2017/0360727A1，及PCT/IB2017/054091，國際申請日：2017年7月7日。亦以全文引用之方式併入本文中的是2018年1月12日申請之美國申請案第62/616,923號。

## 實例

### 實例 1

年齡相關性黃斑疾病之細胞培養

【0151】人類視網膜色素上皮細胞株ARPE-19購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將ARPE-19細胞維持在含有10%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)之RPMI1640中。

## 實例 2

## 阿茲海默氏病之細胞培養

【0152】人類腦細胞株SK-N-SH購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將SK-N-SH細胞維持在含有10%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)之RPMI1640中。

## 實例 3

## 成纖維細胞之細胞培養

【0153】人類結腸成纖維細胞株CCD-18-Co購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將CCD-18Co細胞維持在含有10%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)之DMEM中。

## 實例 4

## 非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)之細胞培養

【0154】人類肝細胞癌細胞株HepG2購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將HepG2細胞維持在含有10%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)之RPMI 1640中。

## 實例 5

## 血管疾病之細胞培養

【0155】人類臍靜脈內皮細胞株HUVEC購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。HUVEC細胞為維持在內皮細胞生長培養基2補充劑MIX (PromoCell, Heidelberg, Germany)中之內皮細胞生長培養基2

#### 實例 6

##### 巨噬細胞培養

【0156】人類肝臟星狀細胞株 LX-2 購自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)。將LX-2細胞維持在含有2%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素及100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)之DMEM中。

【0157】人類單核球細胞株THP-1購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將THP-1細胞維持在含有10%胎牛血清(Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)、100 IU/ml青黴素、100 µg/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)及0.55 uM 2-巰基乙醇之RPMI1640中。在二種條件下培養細胞，一種條件為在37℃下含有5% CO<sub>2</sub>之潮濕氛圍，另一種為維持在1%氧氣、5%及94%下之低氧培養條件。

#### 實例 7

##### 試劑

【0158】乳酸鈣 (CaLa) 及脂多醣 (LPS) 購自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)。2-巰基乙醇購自

Gibco (Grand Island, NY, USA)。佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙 酸 酯 (PMA) 購 自 Enzo Lifesciences (Enzo Diagnostic, NY, USA)。人類干擾素- $\gamma$ 、人類介白素-4 (IL-4) 及人類介白素-10 (IL-10) 購自 BPS Bioscience (San Diego, CA, USA)。多聚甲醛(PFA)溶液(4%)購自 Biosesang (Biosesang Inc., Gyeonggi, Korea)。

#### 實例 8

##### 細胞活力分析

【0159】在ARPE-19細胞中使用活細胞電影分析儀 JuLI™ Br (NanoEnTek Inc., Seoul, Korea)來確認CaLa之毒性。將細胞以 $2.5 \times 10^5$ 個細胞/孔之密度接種於6孔培養盤之培養基中。培育24小時後，用2.5 mM CaLa處理細胞12小時及24小時。在CaLa處理時間內連續監測細胞24小時。(30, 31)

#### 實例 9

##### 巨噬細胞分化

【0160】人類單核球細胞株THP-1購自美國菌種保藏中心(Manassas, VA, USA)。將THP-1細胞維持在補充有10%胎牛血清(Hyclone Laboratories, Inc., Logan, UT, USA)、100 IU/ml青黴素(Welgene, Daegu, South Korea)、100  $\mu$ g/ml鏈黴素(Welgene, Daegu, South Korea)及0.55  $\mu$ M 2-巰基乙醇(Gibco, Grand Island, NY, USA)之RPMI 1640培養基(Hyclone Laboratories, Inc.,

Logan, UT, USA)中。將THP-1細胞維持在37℃下5% CO<sub>2</sub>之潮濕氛圍中。THP-1單核球藉由在RPMI 1640培養基中用佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(PMA)及100 µg/ml (Enzo Diagnostic, NY, USA)培育12小時分化成巨噬細胞。巨噬細胞藉由在RPMI 1640培養基中用20 ng/ml IFN-γ (BPS Bioscience, San Diego, CA, USA)及100 µg/ml LPS (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)培育24小時而在M1巨噬細胞中極化。巨噬細胞M2極化係藉由在RPMI 1640培養基中用20 ng/ml IL-4 (BPS Bioscience, San Diego, CA, USA) 及 20 ng/ml IL-10 (BPS Bioscience, San Diego, CA, USA)培育24小時而獲得。

(32)

#### 實例 10

##### 光學觀察細胞活力

【0161】在ARPE-19細胞中使用活細胞電影分析儀JuLI™ Br (NanoEnTek Inc., Seoul, Korea)來確認CaLa之毒性。將細胞以 $2.5 \times 10^5$ 個細胞/孔之密度接種於6孔培養盤之培養基中。培育24小時後，用2.5 mM CaLa處理細胞12小時及24小時。在CaLa處理時間內連續監測細胞24小時。

#### 實例 11

##### 西方墨點分析

【0162】為製備全細胞溶解物，用具有蛋白酶抑制劑

混合液(Roche, Basel, Switzerland)及磷酸酶抑制劑( $\text{Na}_3\text{VO}_4$  1 mM, NaF 100 mM)之溶解緩衝液(1% NP-40, 0.25 %去氧膽酸鈉, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100, 50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 10%甘油)溶解細胞。隨後,使用雙金雞納酸(BCA)分析套組(Thermo Scientific, Waltham, MA)量測蛋白質濃度。將全細胞或核溶解物轉移至聚偏二氟乙烯膜(Merck Millipore, Billerica, MA, USA)上。在5%脫脂奶(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)中阻斷1小時後,將膜在4°C下與初級抗體培育隔夜,該初級抗體稀釋於獲自Sigma-Aldrich之含有100 mM Tris-HCl (pH 7.5)、1.5 M NaCl及0.5% Tween-20之TBST中,且已向其中添加5% BSA及0.1%疊氮化鈉(Sigma-Aldrich)。針對HIF-1 $\alpha$  (1:1000)、HIF-2 $\alpha$  (1:1000)、LDH-A (1:1000)、LDH-B (1:1000)、TLR-4 (1:1000)、NF- $\kappa$ B (1:1000)、VEGF (1:1000)、 $\alpha$ -微管蛋白(1:1000)、肌動蛋白(1:1000)及GAPDH (1:5000)之特異性初級抗體。次日,用TBST洗滌膜,且用抗兔二級抗體(1:10000)培育2小時。根據製造商之方案,使用西方墨點法偵測試劑(Abclone, Seoul, Korea)使免疫墨點顯影且曝露於X射線膠片(Agfa, Leverkusen, Germany)。

## 實例 12

### 免疫細胞化學

【0163】將ARPE-19及SK-N-SH細胞藉由4% PFA固定於經生物塗佈之蓋玻片(BD bioscience, San Jose,

CA, USA)上20分鐘，且隨後與初級抗體一起培育15小時。初級抗體如下：HIF-1 $\alpha$  (1:300, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)；LDH-A (1:300, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)；LDH-B (1:300, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)；NF- $\kappa$ B (1:300, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)；TLR-4 (1:300, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)；apoE (1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)。PBS洗滌後，將細胞與抗小鼠二級生物素化抗體(1:2000, Vector Laboratorie, Burlingame, CA, USA)一起培育，且用結合螢光素之抗生蛋白鏈菌素(Vector Laboratorie, Burlingame, CA, USA)顯色。使用具有DAPI之VECTASHIELD® Hard Set™封固劑(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)將蓋玻片固定在顯微鏡載玻片上。使用共聚焦雷射掃描顯微鏡(LSCM, Nikon A1+, Tokyo, Japan)在60X油浸透鏡下獲得共聚焦螢光影像。

### 實例 13

#### NASH 之動物模型

【0164】所有實驗均在嘉泉大學(Gachon University)機構動物護理及使用委員會(IACUC-2017-0008)建立之機構指南下進行。自KOATEC (Pyeongtaek, South Korea)購買雌性5週齡

C57BL/6小鼠，且餵食甲硫胺酸-膽鹼飲食(MCD) 4週。當小鼠每隻重15 g時，對小鼠進行隨機剖檢以鑑定非酒精性脂肪變性肝炎(NASH)。每日二次(B.I.D)給小鼠注射皮下乳酸鈣(2 mg/kg)，持續4週。

#### 實例 14

##### 年齡相關性黃斑變性之動物模型

【0165】所有實驗均在嘉泉大學機構動物護理及使用委員會(IACUC-2017-0008)建立之機構指南下進行。自Orient (Charles River Korea, Seoul, Korea)購得六週齡雌性C57BL/6小鼠(20-25 g)。所有動物維持在22°C-25°C下之12小時光照/黑暗循環(光照，08:00)，自由獲取食物及水。將小鼠單獨置於吸氣室中，且用2%異氟醚(HANA PHARM CO., Seoul, Korea)誘導麻醉。藉由雷射光凝(SDL405-700, SD Laser, China)在小鼠的每隻眼睛中誘導病變。雷射脈衝來自藍色雷射(波長，405 nm；SD Laser)。雷射參數為100 μm光斑尺寸，700 mw功率及1 s曝光時間。將總共15隻小鼠隨機分為三組：(i)未進行雷射誘導(n = 3)；(ii)進行雷射燒傷且注射媒劑緩衝液(n = 5)；及(iii) CaLa，2 mg/kg/天(B.I.D) (n=7)。在雷射光凝後數天開始CaLa處理，且皮下處理14天。(33, 34)

#### 實例 15

##### NASH 模型之組織學分析

【0166】解剖小鼠肝臟組織(n=5)且在4°C下在4%多

聚甲醛PBS溶液中固定15小時。將固定的肝臟組織包埋於石蠟中且以10  $\mu\text{m}$ 切片。將載玻片在55°C下培育2小時，隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水並用於蘇木精 (Merck, Darmstadt, Germany) 及伊紅 (H&E) 染色 (35)。用H&E染色之石蠟切片(10  $\mu\text{m}$ 厚)使用Leica DM 1000 LED 顯微鏡 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像。

#### 實例 16

##### 年齡相關性黃斑變性之組織學分析

【0167】在皮下投與2 mg/kg CaLa後2週進行視網膜病變之組織病理學檢查。將摘出的眼睛在4°C下用4%多聚甲醛(PFA)固定24小時，且藉由移除前段獲得之眼睛在磷酸鹽緩衝鹽水中洗滌三次。將固定的平面封固物在梯度乙醇系列中脫水且包埋於石蠟中。將石蠟切片(10  $\mu\text{m}$ 厚)用蘇木精 (Merck, Darmstadt, Germany) 及伊紅 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (H&E)染色，且使用Leica DM 1000 LED 顯微鏡 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像。藉由共聚焦顯微鏡(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)觀察平面封固物上之脈絡膜病變及新血管生成。

#### 實例 17

##### 馬森三色染色

【0168】解剖小鼠肝臟組織(n=5)且在4°C下在4%多

聚甲醛PBS溶液中固定15小時。將固定的組織包埋於石蠟中且以5 mm切片。將載玻片在55℃下培育2小時，隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水，並在56℃下在布安氏溶液(Bouin's solution)中再固定1小時，移除黃色以沖洗流動的自來水5-10分鐘及染色的比布利希猩紅酸性品紅溶液(Biebrich scarlet-acid fuchsin solution) 5分鐘，隨後在磷鉬酸-磷鎢酸溶液(比率1:1)中30分鐘，且用苯胺藍溶液染色15分鐘。在蒸餾水及1%乙酸溶液中短暫沖洗2-5分鐘。將95%乙醇、絕對乙醇脫水且在二甲苯中清潔。用封固劑封固。使用Leica DM 1000 LED顯微鏡(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像。

## 實例 18

### 結果

【0169】圖1為人類白血病單核球之活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在THP-1細胞(人類白血病單核球)低氧條件下，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0170】圖2為分化成巨噬細胞之人類白血病單核球的活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在常氧及低氧條件下，在用PMA (佛波醇-12-肉豆蔻酸酯-13-乙酸酯)分化之THP-1細胞(M0巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0171】圖3提供西方墨點法結果，其顯示在常氧及低氧條件下，在用干擾素 $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )及脂多醣(LPS)分化之

THP-1細胞(M1巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0172】圖4提供西方墨點法結果，其顯示在常氧及低氧條件下，在用介白素-4 (IL-4)及介白素-10 (IL-10)分化之THP-1細胞(M2巨噬細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0173】圖5為肝纖維化活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在低氧條件下，在LX-2細胞(人類肝臟星狀細胞)中，低氧誘導因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0174】圖6為人類內皮細胞活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在低氧條件下，在人類臍靜脈內皮細胞中，低氧介導因子(乳酸脫氫酶A)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0175】圖7為人類成纖維細胞活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在低氧條件下，在CCD-18Co細胞(人類結腸成纖維細胞)中，乳酸脫氫酶B藉由2.5 mM乳酸鈣處理而增加。

【0176】圖8為腦CID活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在常氧及低氧條件下，在SK-N-SH細胞(腦上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0177】圖9為肝臟CID活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在低氧條件下，在HepG2細胞(肝臟上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而變化。

【0178】圖10提供西方墨點法結果，其顯示在低氧條件下，在HepG2細胞(肝臟上皮細胞)中，發炎因子(TLR-4)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0179】圖11為眼CID活體外實驗。西方墨點法結果顯示，在常氧及低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，低氧介導因子藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0180】圖12提供免疫細胞化學結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，低氧誘導因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0181】圖13提供免疫細胞化學結果，其顯示在常氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，乳酸脫氫酶A藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0182】圖14提供免疫細胞化學結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(核因子- $\kappa$ B)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0183】圖15提供免疫細胞化學結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(toll樣受體4)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0184】圖16提供免疫細胞化學結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，乳酸脫氫酶B藉由2.5 mM乳酸鈣處理而增加。

【0185】圖17提供免疫細胞化學結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，脈絡

膜小疣標記物(載脂蛋白E)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0186】圖18提供西方墨點法結果，其顯示在低氧條件下，在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中，發炎因子(NF- $\kappa$ b)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

【0187】圖19顯示在ARPE-19細胞(視網膜色素上皮細胞)中藉由2.5 mM乳酸鈣處理不存在毒性。乳酸鈣僅在受傷上皮細胞之代謝變化中起重要作用。

【0188】圖25提供西方墨點法結果，其顯示在視網膜色素上皮組織中，發炎因子(NF- $\kappa$ B)藉由2.5 mM乳酸鈣處理而減少。

## 實例 19

靶向消化疾病(NFALD、NASH)

### 【0189】材料及方法

【0190】肝病之動物模型。所有實驗均在嘉泉大學機構動物護理及使用委員會(IACUC-2017-0008)建立之機構指南下進行。自KOATEC (Pyeongtaek, South Korea)購買雌性5週齡C57BL/6小鼠，且餵食甲硫胺酸-膽鹼(MCD)飲食4週。每日二次(B.I.D)給小鼠注射皮下乳酸鈣(2 mg/kg)，持續4週。組織學分析。解剖小鼠肝臟組織(n=5)且在4°C下在4%多聚甲醛PBS溶液中固定15小時。將固定的肝臟組織包埋於石蠟中且以10  $\mu$ m切片。將載玻片在55°C下培育2小時，隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水並用於蘇木精(Merck, Darmstadt, Germany)及伊紅

(H&E)染色。用H&E染色之石蠟切片(10  $\mu$ m厚)使用Leica DM 1000 LED顯微鏡(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像

【0191】馬森三色染色。解剖小鼠肝臟組織(n=5)且在4°C下在4%多聚甲醛PBS溶液中固定15小時。將固定的組織包埋於石蠟中且以5 mm切片。將載玻片在55°C下培育2小時，隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水，並在56°C下在布安氏溶液中再固定1小時，移除黃色以沖洗流動的自來水5~10分鐘及染色的比布利希猩紅酸性品紅溶液5分鐘，隨後在磷鉬酸-磷鎢酸溶液(比率1:1)中30分鐘，且用苯胺藍溶液染色15分鐘。在蒸餾水及1%乙酸溶液中短暫沖洗2-5分鐘。將95%乙醇、絕對乙醇脫水且在二甲苯中清潔。用封固劑封固。使用Leica DM 1000 LED顯微鏡(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像。

【0192】圖20為肝臟CID (NASH)活體內實驗。為誘導NASH，給小鼠餵食具有多不飽和脂肪之甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)飲食8週。血液化學結果表明，血清AST及ALT藉由2 mg/kg乳酸鈣處理而顯著減少。與甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)相比，\*\* $P < 0.001$ 。結果為平均值 $\pm$  SD。

【0193】圖21提供免疫組織化學結果，其顯示在乳酸鈣處理組中未觀察到脂滴(肝臟組織中之白色孔)，而在甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中充分觀察到脂滴。藉由2 mg/kg乳酸鈣處理來預防脂肪變性。結果顯示乳酸鈣處理

預防脂肪變性。

【0194】圖22提供免疫組織化學結果，其顯示與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中不存在脂滴(肝臟組織中之白色孔)，而其存在於甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中。

【0195】圖23提供免疫組織化學結果，其顯示與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中之免疫細胞浸潤減少，而免疫細胞浸潤在甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中增加。

【0196】圖24提供免疫組織化學結果，其顯示與對照組類似，在2 mg/kg乳酸鈣處理組中，肝臟中不存在纖維化(膠原蛋白積聚位點；白色箭頭)，而其存在於甲硫胺酸-膽鹼缺乏(MCD)組中。

## 實例 20

靶向眼部疾病(年齡相關性黃斑變性(AMD)、角膜炎及糖尿病性視網膜病變)

### 【0197】材料及方法

【0198】動物。所有實驗均在嘉泉大學機構動物護理及使用委員會(IACUC-2017-0008)建立之機構指南下進行。自Orient (Charles River Korea, Seoul, Korea)購得六週齡C57BL小鼠。所有動物維持在22°C-25°C下之12小時光照/黑暗循環(光照，08:00)，自由獲取食物及水。

【0199】乳酸鈣之製備。乳酸鈣購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)。將2 mg/kg乳酸鈣溶解於生理鹽

水中用於每日皮下注射(21天)。

【0200】眼部疾病之動物模型。將小鼠單獨置於吸氣室中，且用2%異氟醚(HANA PHARM CO., Seoul, Korea)誘導麻醉。藉由雷射光凝(SDL405-700, SD Laser, China)在小鼠之雙眼中誘導雷射誘導之布魯赫膜(Bruch's membrane)破裂。雷射脈衝來自綠色雷射(波長，532 nm；Visulas, 532; SD Laser)。雷射參數為100  $\mu$ m光斑尺寸，700 mw功率及1 s曝光時間。

【0201】脈絡膜平面封固物之製備。雷射損傷後二十一天，將各組小鼠麻醉且用含有25 mg異硫氰酸螢光素-葡聚糖(Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)之1.0 mL PBS灌注左心室。摘出眼睛且在4%多聚甲醛中固定1小時。在半切除眼睛後製備視網膜色素上皮-脈絡膜-鞏膜眼杯，完全移除晶狀體、玻璃體及視網膜。視網膜色素上皮-脈絡膜-鞏膜眼杯藉由自邊緣至中緯線產生四或五個放射狀切口而扁平化，且平面封固於aqua-mount中。

【0202】組織學分析。將固定的平面封固物在梯度乙醇系列中脫水且包埋於石蠟中。將石蠟切片(10  $\mu$ m厚)用蘇木精(Merck, Darmstadt, Germany)及伊紅(Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (H&E)染色，且使用Leica DM 1000 LED顯微鏡(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)成像。藉由共聚焦顯微鏡(Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)觀察平面封固物上之脈絡膜病變及新血管生成。

**【0203】結果**

**【0204】**圖26提供脈絡膜平面封固物內層病變之H&E染色的代表性影像。在AMD誘導後觀察到視網膜色素上皮之異常形態(中間影像)。藉由用2.5 mM乳酸鈣處理(右影像)，視網膜色素上皮之形態以與正常對照上皮(左影像)類似的方式恢復。

**【0205】**圖27提供藉由雷射誘導之AMD在平面封固物上脈絡膜內層病變的螢光影像。在AMD誘導後觀察到脈絡膜病變(中間影像)。脈絡膜病變在用乳酸鈣處理後恢復(右影像)。

**【0206】**圖28提供藉由雷射誘導之AMD在平面封固物上脈絡膜之內層病變及新血管生成的螢光影像。在AMD誘導後觀察到脈絡膜病變及新血管生成(中間影像)。脈絡膜病變及新血管生成在用乳酸鈣處理後恢復(右影像)，與正常對照(左影像)相同。

**實例 21**

靶向阿茲海默病及中風

**【0207】材料及方法**

**【0208】動物。**所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南(11737，2013年4月5日修訂)及嘉泉大學機構動物護理及使用委員會制定的指南(LCDI-2018-0073)進行。自Samtako Co. (Osan, Gyeonggi-do, Republic of Korea)獲得八週齡雄性史泊格-多利(Sprague-Dawley，SD)大鼠，且在無特定病原體(SPF)條件下飼養。所有動物維持

在22℃-25℃下之12小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

【0209】脂多醣(LPS)及乳酸鈣之製備。將1 mg LPS粉末溶解於1 ml生理鹽水中。若LPS欲新鮮使用，則將管保持在冰上。對於長期儲存，螺旋蓋小瓶較佳。將等分試樣儲存在-20℃下。乳酸鈣購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)。將2 mg/kg乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

【0210】顱內注射LPS。將動物置於小的丙烯酸籠中，該籠與麻醉機連接，允許動物在氣體麻醉(2%異氟醚，Spartanburg, SC, USA)下自由呼吸。在實現動物之完全麻醉後，將其置於手術台上(同時維持氣體麻醉)，頸部上面過度伸展以暴露後部區域。用電動剪毛器剃去頭部的動物皮毛，且用碘擦拭皮膚。使用前將LPS保存在冰上。所有手術材料均用70%乙醇消毒。用蒸餾水及70%乙醇清潔Hamilton注射器針筒內部空間。將Hamilton注射器置於注射器支架中。將立體定位裝置中之動物置於水平位置。用解剖刀在頭部皮膚上切開中線(約1 cm)。將Hamilton注射器之針頭置於前囟。讀取操控器上之三個座標(AP：-3.6，LM：2.0及DV：-3.8)(以mm為單位)且將其寫下；此用作起始點。緩慢地，設置注射點之DV座標；此舉將針尖插入腦中直至注射點。LPS溶液(2 µl)以約0.5 µl/min之流動速率釋放。注射後，非常緩慢地移出針頭。藉由縫合閉合傷口區域，且隨後施用消毒劑。標記大鼠以進一步鑑定。

【0211】免疫組織化學。將腦組織在低溫恆溫器上以 5  $\mu\text{m}$  切片且染色用於組織學檢查。在 200X 放大倍率下獲得顯微影像。對於免疫組織化學，將切片在室溫下用含 1% BSA 及 10% NGS 之 0.05 M PBS 阻斷 1 小時，且隨後在 4℃ 下與兔抗 Iba-1 (1:1000, Bioss, MA, USA) 反應兩個隔夜。ABC 染色系統用於顯現切片 (Vector Laboratories, CA, USA) 中之微神經膠質細胞 (Iba-1)。

#### 【0212】結果

【0213】圖 29 提供建立阿茲海默病及中風疾病之實驗方案。OMT-110 為乳酸鈣。圖 30 提供顯示藉由 LPS 之腦損傷的代表性影像。對側：正常區域。同側：LPS 注射。

【0214】圖 31 顯示受損腦組織之恢復及在腦損傷後募集之微神經膠質細胞浸潤的減少。結果表明，加劇阿茲海默氏病及中風之發炎反應極大地減少。

## 實例 22

### 靶向帕金森氏病

#### 【0215】材料及方法

【0216】動物。所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南 (11737, 2013 年 4 月 5 日修訂) 及嘉泉大學機構動物護理及使用委員會制定的指南 (LCDI-2018-0073) 進行。自 Samtako Co. (Osan, Gyeonggi-do, Republic of Korea) 獲得八週齡雄性史泊格-多利 (SD) 大鼠，且在無特定病原體 (SPF) 條件下飼養。所有動物維持在 22℃ - 25℃ 下之 12 小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

【0217】地昔帕明(desipramine)、6-OHDA及乳酸鈣之製備。將地昔帕明(12.5 mg/kg；去甲腎上腺素轉運蛋白阻斷劑；Sigma Aldrich, St. Louis, USA)溶解於生理鹽水中用於腹膜內注射。將6-OHDA (20 µg/大鼠，Sigma Aldrich, St. Louis, USA)溶解於生理鹽水中用於顱內注射。將2 mg/kg乳酸鈣(Sigma Aldrich, St. Louis, USA)溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

【0218】地昔帕明及6-OHDA之注射。在6-OHDA注射之前30分鐘，將地昔帕明注射進入動物腹腔(腹膜內注射)。在地昔帕明注射後30分鐘，將動物置於小的丙烯酸籠中，該籠與麻醉機連接，允許動物在氣體麻醉(2%異氟醚，Spartanburg, SC, USA)下自由呼吸。在實現動物之完全麻醉後，將其置於手術台上(同時維持氣體麻醉)，頸部上面過度伸展以暴露後部區域。用電動剪毛器剃去頭部的動物皮毛，且用碘擦拭皮膚。所有手術材料均用70%乙醇消毒。用蒸餾水及70%乙醇清潔Hamilton注射器針筒內部空間。將Hamilton注射器置於注射器支架中。將立體定位裝置中之動物置於水平位置。用解剖刀在頭部皮膚上切開中線(約1 cm)。將Hamilton注射器之針頭置於前囟。讀取操控器上之三個座標(AP：-5.6，LM：2.0及DV：-7.6)(以mm為單位)且用作起始點。緩慢地設置注射點之DV座標；此舉將針尖插入腦中直至注射點。6-OHDA溶液(20 µg/ 4 µl)以約1 µl/min之流動速率釋放。注射後，非常緩慢地移出針頭。藉由縫合閉合傷口區域，且隨後施用消毒

劑。標記大鼠以進一步鑑定。

【0219】免疫組織化學。將腦組織在低溫恆溫器上以 5  $\mu\text{m}$  切片且染色用於組織學檢查。在 200X 放大倍率下獲得顯微影像。對於免疫組織化學，將切片在室溫下用含 1% BSA 及 10% NGS 之 0.05 M PBS 阻斷 1 小時，且隨後在 4℃ 下與兔抗酪胺酸羥化酶 (1:500, Chemicon, Tokyo, Japan) 反應兩個隔夜。ABC 染色系統用於顯現切片 (Vector Laboratories, CA, USA) 中之多巴胺激導性神經元。

#### 【0220】結果

【0221】圖 32 提供建立帕金森氏病之實驗方案。OMT-110 為乳酸鈣。

【0222】圖 33 顯示藉由用乳酸鈣處理恢復多巴胺激導性神經元。帕金森氏病為一種神經退化性病徵，其藉由破壞大腦特定區域 (黑質) 中之多巴胺激導性神經元來影響多巴胺產生。

### 實例 23

靶向多發性硬化症及脊髓損傷

#### 【0223】材料及方法

【0224】動物。所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南 (11737, 2013 年 4 月 5 日修訂) 及嘉泉大學機構動物護理及使用委員會制定的指南 (LCDI-2018-0073) 進行。自 Samtako Co. (Osan, Gyeonggi-do, Republic of Korea) 獲得八週齡雄性史泊格-多利 (SD) 大鼠，且在無特定病原體 (SPF) 條件下飼養。所有動物維持在 22℃ - 25℃ 下之 12

小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

【0225】脂多醣(LPS)及乳酸鈣之製備。將1 mg LPS粉末溶解於1 ml生理鹽水中。若LPS欲新鮮使用，則將管保持在冰上。對於長期儲存，較佳使用螺旋蓋小瓶。將等分試樣儲存在低溫冷凍器(-20℃)。乳酸鈣購自Sigma Aldrich (St. Louis, USA)。將2 mg/kg乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

【0226】脊椎內注射LPS。將動物置於小的丙烯酸籠中，該籠與麻醉機連接，允許動物在氣體麻醉(2%異氟醚，Spartanburg, SC, USA)下自由呼吸。在實現動物之完全麻醉後，將其置於手術台上(同時維持氣體麻醉)。對於脊椎內注射LPS，暴露大鼠之椎板切除位點。在左背柱上方之硬腦膜中製作兩個相距1 mm的小孔。將1 µl體積之LPS溶液小心地吸入無菌Hamilton注射器中，且將LPS溶液緩慢地注射至脊髓中。將注射器保持在原位另外2分鐘以防止來自注射部位的反向通量。隨後，藉由手術夾閉合注射部位。

【0227】免疫組織化學。將脊髓組織在低溫恆溫器上以5 µm切片且染色用於組織學檢查。在200X放大倍率下獲得顯微影像。對於免疫組織化學，將切片在室溫下用含1% BSA及10% NGS之0.05 M PBS阻斷1小時，且隨後在4℃下與兔抗Iba-1 (1:1000，Bioss, MA, USA)反應兩個隔夜。ABC染色系統用於顯現切片(Vector Laboratories, CA, USA)中之微神經膠質細胞(Iba-1)。

**【0228】結果**

**【0229】**圖34提供建立多發性硬化症之實驗方案。OMT-110為乳酸鈣。

**【0230】**圖35顯示藉由用乳酸鈣處理，脫髓鞘脊髓之恢復及微神經膠質細胞浸潤之減少。中樞神經系統之脫髓鞘及免疫浸潤發生與許多病症(包括多發性硬化症及脊髓損傷)中之炎症相關。

**實例 24**

靶向血管疾病(動脈粥樣硬化、腦出血及心肌梗塞)

**【0231】材料及方法**

**【0232】**動物。所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南(11737，2013年4月5日修訂)及京畿道生物中心機構動物護理及使用委員會制定的指南(2017-11-0008, South Korea)進行。自Japan SLC Inc. (Shizuoka, Japan)獲得五週齡雄性BALB/c ApoE<sup>shi</sup>小鼠且在無特定病原體(SPF)條件下飼養。所有動物維持在22°C-25°C下之12小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

**【0233】**乳酸鈣之製備。乳酸鈣購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)。將2 mg/kg乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

**【0234】**血管疾病之動物模型。BALB/c ApoE<sup>shi</sup>物種用於自發誘導血管疾病。在此研究中，提供高脂肪(40%)飲食4週以誘導強烈的動脈粥樣硬化。

**【0235】**組織學分析。切斷胸主動脈，將一半主動脈

固定在10%中性緩衝福馬林固定液中。隨後，進行組織學分析。用H&E及油紅O染色進行組織學分析。分析主動脈壁厚、動脈粥樣硬化斑面積、泡沫細胞數及脂化區域。

【0236】統計分析。使用SPSS統計進行統計分析，且使用學生t檢驗分析結果。使用曼-惠特尼方法(Mann-Whitney method)進行組織學分析。 $P < 0.05$ 視為統計學上顯著的。

【0237】結果

【0238】表1. 組織學分析之定量分析。在疾病誘導後，動脈硬化之所有臨床指標均顯著增加。然而，用乳酸鈣處理後，指標顯著降低。\*：G2與G1之間顯著不同， $P < 0.05$ ；++：G2與G3之間顯著不同， $P < 0.01$ ；+：G2與G3之間顯著不同， $P < 0.05$ 。

| 組  | 組織病理學分析                 |                             |                             | 雄性                      |
|----|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|    | 平均主動脈壁厚(μm)             | 動脈粥樣硬化斑面積(mm <sup>2</sup> ) | 泡沫細胞數(個細胞/mm <sup>2</sup> ) | 脂質沈積區(mm <sup>2</sup> ) |
| G1 | 47.71±2.43              | 0.00±0.00                   | 0.00±0.00                   | 0.01±0.00               |
| G2 | 147.51±23.58*           | 0.50±0.08*                  | 135.75±31.76*               | 0.41±0.06*              |
| G5 | 85.83±8.70 <sup>+</sup> | 0.10±0.05 <sup>++</sup>     | 39.00±10.13 <sup>+</sup>    | 0.09±0.03 <sup>++</sup> |

資料表示為平均值±S.E.M。結果藉由曼-惠特尼方法進行統計學分析。

G1：正常對照(生理鹽水)；G2：媒劑對照(生理鹽水)；G3：乳酸鈣；G2-G3：供應高膽固醇飲食之 ApoE 缺陷小鼠(動脈粥樣硬化)

【0239】直接靶向動脈粥樣硬化之證據

表 2. 臨床血液化學

| 臨床血液化學(mg/dL) |                |           |               | 雄性                  |
|---------------|----------------|-----------|---------------|---------------------|
| 組             | TCHO           | TG        | LDL           | HDL                 |
| G1            | 113.7±3.0      | 75.7±1.5  | 15.0±2.9      | 87.3±13.0           |
| G2            | 2092.4±349.2** | 48.6±6.8* | 1541.6±30.9** | <b>220.4±11.7**</b> |
| G3            | 2328.0±56.7    | 54.8±2.8  | 1537.1±14.2   | 197.2±3.7           |

資料表示為平均值±S.E.M，藉由學生 *t* 檢驗方法進行統計學分析。

\*\*：G2 與 G1 之間有統計學差異，*P*<0.01

\*：G2 與 G1 之間有統計學差異，*P*<0.05

G1：正常對照(生理鹽水，n=3)

G2：媒劑對照(生理鹽水，n=8)

G3：測試品(乳酸鈣五水合物，n=8)

G2-G3：供應高膽固醇飲食之 ApoE 缺陷小鼠

【0240】諸如膽固醇(TCHO)、LDL膽固醇(LDL)、甘油三酯(TG)及HDL-膽固醇(HDL)之致病因子不受乳酸鈣控制。鈣與乳酸酯之組合形式充當直接作用於疾病部位(參見圖36)之單一成分。

【0241】圖36提供主動脈組織之代表性組織學特徵。圖片左側及中側之組織為H&E染色。圖片右側之組織為用於區分動脈粥樣硬化病變的油紅染色。動脈粥樣硬化病變藉由用乳酸鈣處理而減少。

實例 25

靶向齒周疾病(齒髓炎及齒根骨膜炎)

【0242】材料及方法

【0243】動物。所有實驗均根據韓國法律之動物護理

指南(11737, 2013年4月5日修訂)及嘉泉大學機構動物護理及使用委員會制定的指南(LCDI-2018-0073)進行。自 Samtako Co. (Osan, Gyeonggi-do, Republic of Korea) 獲得八週齡雄性史泊格-多利(SD)大鼠, 且在無特定病原體(SPF)條件下飼養。所有動物維持在22℃-25℃下之12小時光照/黑暗循環, 自由獲取食物及水。

【0244】脂多醣(LPS)及乳酸鈣之製備。將1 mg LPS 粉末溶解於100 µl生理鹽水中。若LPS欲新鮮使用, 則將管保持在冰上。對於長期儲存, 較佳使用螺旋蓋小瓶。將等分試樣儲存在低溫冷凍器(-20℃)中。乳酸鈣購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)。將2 mg/kg乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

【0245】齒周疾病之動物模型。齒周疾病係藉由齒齦內注射含LPS (1 mg/100 µl)之無菌生理鹽水來誘導。在第一個右下頷臼齒的近外側插入一根細小的皮下注射針, 且尖端向遠端移動, 以便在第一與第二臼齒之間的齒間乳頭處進行注射。緩慢注射, 且在注射後將針保持在原位10秒, 以確保LPS不會經由針道損失。

【0246】組織學分析。解剖包括牙齒的大鼠牙齦且在4℃下在4%多聚甲醛中固定2天。將固定的組織包埋於石蠟中且以10 µm切片。將載玻片在55℃下培育2小時, 隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水, 並在布安氏溶液中再固定1小時, 移除黃色以沖洗流動的自來水5-10分鐘且用比布利希猩紅酸性品紅溶液染色5分鐘, 隨後在

磷鉬酸-磷鎢酸溶液(比率1:1)中30分鐘，且用苯胺藍溶液染色15分鐘。在蒸餾水及1%乙酸溶液中短暫沖洗5分鐘。將95%乙醇、絕對乙醇脫水且在二甲苯中清潔。用封固劑封固。使用 Leica DM 1000 LED 顯微鏡 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)對染色組織進行成像。

**【0247】結果**

**【0248】**圖37顯示齒周組織之馬森三色染色。LPS處理誘導齒周疾病，導致齒根周圍的韌帶及齒齦脫落(中間影像)。韌帶及齒齦在用乳酸鈣處理後恢復(右影像)，與正常對照(左影像)相同。

**【0249】**圖38顯示上齒齦之馬森三色染色。用LPS處理之齒周組織周圍的上齒齦由於嚴重的炎症而顯示異常的形態(中間影像)。上齒齦之形態在用乳酸鈣處理後恢復(右影像)，與正常對照(左影像)相同。

**實例 26**

靶向肌肉骨骼疾病(類風濕性關節炎)

**【0250】材料及方法**

**【0251】動物。**所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南(11737，2013年4月5日修訂)及京畿道生物中心機構動物護理及使用委員會制定的指南(2017-11-0003, South Korea)進行。自Japan SLC Inc. (Shizuoka, Japan)獲得六週齡雄性DBA1/J小鼠且在無特定病原體(SPF)條件下飼養。所有動物維持在22℃-25℃下之12小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

【0252】藥劑之製備。將2 mg/mL II型膠原蛋白與相同體積之完全弗氏佐劑(CFA)混合，用於類風濕性關節炎之初次誘導。將2 mg/mL II型膠原蛋白與相同體積之不完全弗氏佐劑(IFA)混合，用於類風濕性關節炎之二次誘導。將2 mg/kg 乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。

【0253】類風濕性關節炎之動物模型

【0254】初次誘導：將0.1 mL混合溶液(II型膠原蛋白 + CFA)皮下注射至距離小鼠尾巴根部1.5 cm的區域。所有小鼠之投與部位及深度相同。

【0255】二次誘導：初次誘導後21天，將0.1 mL混合溶液(II型膠原蛋白 + IFA)皮下注射至距離小鼠尾巴根部1.5 cm的區域。所有小鼠之投與部位及深度相同。

【0256】組織學分析。解剖小鼠足部及膝關節，固定(4%多聚甲醛)且在4℃下脫鈣2天。將組織包埋於石蠟中且以15 μm切片。將載玻片在55℃下培育2小時，隨後在二甲苯中去石蠟且在梯度乙醇系列中復水，且用比布利希猩紅酸性品紅溶液染色5分鐘，隨後在磷鉬酸-磷鎢酸溶液(比率1:1)中30分鐘，且用苯胺藍溶液染色15分鐘。在蒸餾水及1%乙酸溶液中短暫沖洗5分鐘。將95%乙醇、絕對乙醇脫水且在二甲苯中清潔。用封固劑封固。使用Leica DM 1000 LED 顯微鏡 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)對染色組織進行成像。

【0257】結果

【0258】圖39顯示足部及膝關節組織之馬森三色染色。在腳趾及膝關節中觀察到由於類風濕性關節炎的發炎水腫(中間影像)。在用CaLa處理後21天，腳趾及膝關節中之發炎水腫明顯減少(下部影像)，且其形態恢復得與正常對照(上部影像)相同。

## 實例 27

靶向消化疾病(發炎性腸病：克羅恩氏病及結腸炎)

### 【0259】材料及方法

【0260】動物。所有實驗均根據韓國法律之動物護理指南(11737，2013年4月5日修訂)及嘉泉大學機構動物護理及使用委員會制定的指南(LCDI-2018-0073)進行。自Samtako Co. (Osan, Gyeonggi-do, Republic of Korea)獲得六週齡雄性史泊格-多利(SD)大鼠，且在無特定病原體(SPF)條件下飼養。所有動物維持在22℃-25℃下之12小時光照/黑暗循環，自由獲取食物及水。

【0261】藥劑及動物模型。為誘導克羅恩氏病及結腸炎，自Sigma Chemical (St. Louis, Missouri, USA)購得吲哚美辛(indomethacin)且將其溶解於生理鹽水中。將2 mg/kg 乳酸鈣溶解於生理鹽水中用於每日皮下注射(21天)。使用兩種發炎性腸病模型。藉由經口投與吲哚美辛(7 mg/kg)誘導克羅恩氏病，且藉由每日間隔24小時皮下注射吲哚美辛(7 mg/kg)誘導結腸炎(圖40及42)。

【0262】組織學分析。將固定的平面封固物在梯度乙醇系列中脫水且包埋於石蠟中。將石蠟切片(5 μm厚)用蘇

木 精 (Merck, Darmstadt, Germany) 及 伊 紅 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) (H&E) 染色，且使用 Leica DM 1000 LED 顯微鏡 (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) 成像。

**【0263】 結果**

**【0264】** 圖40提供誘導克羅恩氏病之實驗方案。

**【0265】** 圖41提供克羅恩氏病之H&E染色的代表性影像。在誘導克羅恩氏病後觀察到腸道內之透壁炎症 (Transmural inflammation) 及線性潰瘍(中間影像)。在用CaLa處理後四週，腸道組織中之透壁炎症及線性潰瘍明顯減少(下部影像)，且其形態恢復得與正常對照(上部影像)相同。

**【0266】** 圖42提供誘導結腸炎之實驗方案。

**【0267】** 圖43提供結腸炎之H&E染色的代表性影像。在誘導結腸炎後觀察到腸道內之淺表性潰瘍、息肉及炎症(中間影像)。在用CaLa處理後四週，腸道組織中之淺表性潰瘍、息肉及炎症明顯減少(下部影像)，且其形態恢復得與正常對照(上部影像)相同。

**【0268】** 本文揭露之一些其他實施例包括但不限於以下：

A. 一種治療哮喘、肺纖維化、肥胖症、胃腸炎、慢性發炎性腸病及/或異位性皮膚炎之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

B. 一種治療慢性阻塞性肺病、肺炎、角膜炎、動脈粥樣硬化、動脈硬化、心肌炎、糖尿病、類風濕性關節炎、齒髓炎、齒根骨膜炎及/或牛皮癬之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

C. 一種治療阿茲海默氏病、中風、帕金森氏病、多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病、敗血症及/或骨質疏鬆症之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之乳酸鈣。

D. 如實施例 A-C 中任一項之方法，其中該乳酸鈣係以包含醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組成物投與。

E. 如實施例 A-D 中任一項之方法，其中該醫藥組成物調配成液體、散劑、氣溶膠、注射液、輸液、貼劑、膠囊、丸劑、錠劑、藥物儲槽或栓劑。

F. 如實施例 A-D 中任一項之方法，其中該醫藥組成物包含治療有效量之乳酸鈣作為活性劑及醫藥學上可接受之多醣、聚合物、脂質或其組合。

G. 如實施例 F 之方法，其中該醫藥組成物包含該乳酸鈣及該多醣。

H. 如實施例 G 之方法，其中該乳酸鈣與該多醣之重量比為 1:<0.2 至 1:5。

I. 如實施例 G 之方法，其中該乳酸鈣與該多醣之重量比為 1:<0.2。

J. 如實施例 G 之方法，其中該乳酸鈣與該多醣之重量比為 1:0.2 至 1:5。

K. 如實施例 F-J 中任一項之方法，其進一步包含聚合物及/或脂質。

L. 如實施例 K 之方法，其進一步包含該聚合物及脂質，其中該聚合物與該脂質之重量比為 1:0.1 至 1:50。

M. 如實施例 K-L 中任一項之方法，其中該乳酸鈣與該聚合物及/或脂質之重量比為至少 1:5。

N. 如實施例 M 之方法，其中該乳酸鈣與該聚合物及/或脂質之重量比為 1:5 至 1:30。

O. 如實施例 F 之方法，其包含該乳酸鈣及該聚合物及/或脂質。

P. 如實施例 O 之方法，其包含該聚合物及脂質，其中該聚合物與該脂質之重量比為 1:0.1 至 1:50。

Q. 如實施例 O-P 中任一項之方法，其中該乳酸鈣與該聚合物及/或脂質之重量比為至少 1:5。

R. 如實施例 O-Q 中任一項之方法，其中該乳酸鈣與該聚合物及/或脂質之重量比為 1:5 至 1:30。

S. 如實施例 O-R 中任一項之方法，其中該組成物為短效的。

T. 如實施例 O-R 中任一項之方法，其中該組成物為長效的。

U. 如實施例 F-T 中任一項之方法，其中該組成物為可注射組成物。

V. 如實施例 F-U 中任一項之方法，其包含該多醣，該多醣為纖維素衍生物、果膠、玻尿酸、澱粉、瓜爾膠、聚葡萄糖胺糖、明膠、膠原蛋白、海藻酸鹽、海藻酸或其組合。

W. 如實施例 F-V 中任一項之方法，其包含該聚合物，該聚合物為泊洛沙姆、聚乙烯吡咯啶酮、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇酸乳酸(PLGA)或其組合。

X. 如實施例 F-W 中任一項之方法，其包含該脂質，該脂質為單脂肪酸甘油酯或三脂肪酸甘油酯或聚乙二醇、植物油之聚乙二醇酯、脂肪酸丙二醇酯、芝麻油、大豆油、蓖麻油、玉米油、棕櫚油、花生油、可可油、棉籽油、葵花籽油、紅花油、杏仁油、橄欖油、氫化油、油酸、次亞麻油酸、亞麻油酸、棕櫚酸、棕櫚油酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸、癸酸、辛酸、月桂酸、硬脂酸、油酸乙酯、棕櫚酸異丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、棕櫚酸鯨蠟酯、月桂醇、油醇、鯨蠟醇、硬脂醇或其組合。

Y. 如實施例 F-S 及 U-X 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，6 小時後釋放至少約 40% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

Z. 如實施例 F-S 及 U-Y 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，12 小時後釋放至少約 60% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下

於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

AA. 如實施例 F-S 及 U-Z 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，24 小時後釋放至少約 80% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

BB. 如實施例 F-S 及 U-AA 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，48 小時後釋放至少約 90% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

CC. 如實施例 F-H、J-R 及 T-X 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，24 小時後釋放少於約 40% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

DD. 如實施例 F-H、J-R 及 T-CC 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，48 小時後釋放少於約 60% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

EE. 如實施例 F-H、J-R 及 CC-DD 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，72 小時後釋

放少於約 80% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

FF. 如實施例 F-H、J-R 及 CC-EE 中任一項之方法，其中在將該組成物置於活體外溶解測試中時，144 小時後釋放少於約 90% 之該活性劑，該活體外溶解測試包含在 300 rpm 下於 pH 為 6.8 之 200 ml 水性介質中在 37°C 下使用孔徑為 45  $\mu\text{m}$  之耐綸過濾器的溶離測試方法。

GG. 如實施例 F-FF 中任一項之方法，其中該組成物包含在無菌玻璃或聚烯烴容器中。

HH. 如實施例 A-D 中任一項之方法，其中該乳酸鈣包覆有醫藥學上可接受之腸溶包衣。

II. 如實施例 HH 之方法，其中該腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯(PVAP)、蟲膠、甲基丙烯酸及其酯之聚合物，或其組合。

JJ. 如實施例 HH-II 中任一項之方法，其中該乳酸鈣與該腸溶包衣之重量比為 10:0.5 至 1:1.5。

KK. 如實施例 HH-JJ 中任一項之方法，其中在包含 37°C 下槳速為 50 rpm 之 USP 槳法的活體外溶解測試中，當將該組成物置於 0.1 HCl 中 120 分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至 pH 6.8 時，30 分鐘後釋放少於約 20% 之該活性劑。

LL. 如實施例 HH-KK 中任一項之方法，其中在包含 37°C 下槳速為 50 rpm 之 USP 槳法的活體外溶解測試中，當將該組成物置於 0.1 N HCl 中 120 分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至 pH 6.8 時，60 分鐘後釋放少於 30% 之該活性劑。

MM. 如實施例 HH-LL 中任一項之方法，其中在包含 37°C 下槳速為 50 rpm 之 USP 槳法的活體外溶解測試中，當將該組成物置於 0.1 N HCl 中 120 分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至 pH 6.8 時，120 分鐘後釋放少於 50% 之該活性劑。

NN. 如實施例 HH-MM 中任一項之方法，其中在包含 37°C 下槳速為 50 rpm 之 USP 槳法的活體外溶解測試中，當將該組成物置於 0.1 N HCl 中 120 分鐘，隨後用磷酸鹽緩衝液調節至 pH 6.8 時，120 分鐘後釋放少於 10% 之該活性劑。

OO. 如實施例 A-B 中任一項之方法，其中該乳酸鈣在包含乳酸鈣之食品或營養組成物中提供。

PP. 如實施例 OO 之方法，其中該組成物為可注射的營養補充劑。

【0269】2018 年 1 月 12 日提交之美國申請案第 62/616,923 號的全部內容以引用的方式併入本文中。

【0270】具體實施例之前述描述將充分揭示本發明之一般性質，其他人在不脫離本發明之一般概念的情況下，可藉由應用此項技術之技能範圍內的知識，容易地針

對各種應用修改及/或調適。因此，基於本文中所呈現之教示及指導，此等調適及修改意欲在所揭露實施例之等效者的含義及範圍內。應理解，本文中之措辭或術語係出於描述而非限制之目的，以使得本說明書之術語或措辭應由熟習此項技術者鑒於教示及指導來解譯。

**【0271】** 本發明之廣度及範疇不應受上述例示性實施例中之任一者限制，而應僅根據以下申請專利範圍及其等效物來界定。

**【0272】** 本文所述之所有各個態樣、實施例及選項可以任何及所有變化形式組合。

**【0273】 參考文獻**

1. Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR, “Age-dependent dysregulation of innate immunity,” Nature Reviews Immunol. 13:875-87 (2013).

2. Sevenoaks MJ, Stockley RA, “Chronic Obstructive Pulmonary Disease, inflammation and co-morbidity--a common inflammatory phenotype”, Respiratory Res. 7:70 (2006).

3. Hessen M, Akpek EK, “Dry eye: an inflammatory ocular disease,” J. Ophthalmic & Vision Res. 9:240-50 (2014).

4. Blanco P, Palucka AK, Pascual V, Banchereau J, “Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases,” Cytokine & Growth Factor Rev. 19:41-52 (2008).

5. Fornoni A, Ijaz A, Tejada T, Lenz O, “Role of inflammation in diabetic nephropathy,” Current Diabetes Rev. 4:10-7 (2008).

6. Minghetti L, "Role of inflammation in neurodegenerative diseases," *Current Opinion Neurology* 18:315-21 (2005).
7. Kofler S, Nickel T, Weis M, "Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation," *Clinical Sci.* 108:205-13 (2005).
8. Hotamisligil GS, "Inflammation and metabolic disorders," *Nature* 444:860-7 (2006).
9. Choy EH, Panayi GS, "Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis," *New England J. Medicine* 344:907-16 (2001).
10. Mundy GR, "Osteoporosis and inflammation," *Nutrition Rev.* 65:S147-51 (2007).
11. Page RC, Schroeder HE, "Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work," *Laboratory Investigation* 34:235-49 (1976).
12. Tilg H, Moschen AR, "Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease," *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM* 19:371-9 (2008).
13. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DY, "Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis," *J. Clinical Investigation* 94:870-6 (1994).
14. Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P, "Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in

patients with active psoriasis and correlation with disease severity,”  
Mediators of Inflammation 2005:273-9 (2005).

15. Gilroy D, De Maeyer R, “New insights into the resolution of inflammation,” Seminars in Immunology 27:161-8 (2015).

16. Manabe I, “Chronic inflammation links cardiovascular, metabolic and renal diseases,” Circulation J. 75:2739-48 (2011).

17. Fujiwara N, Kobayashi K, “Macrophages in inflammation. Current drug targets,” Inflammation and Allergy 4:281-6 (2005).

18. Gilmore TD, “Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives,” Oncogene 25:6680-4 (2006).

19. Karin M, “How NF-kappaB is activated: the role of the IkappaB kinase (IKK) complex,” Oncogene 18:6867-74 (1999).

20. Taylor CT, “Interdependent roles for hypoxia inducible factor and nuclear factor-kappaB in hypoxic inflammation,” J. Physiology 586:4055-9 (2008).

21. Eltzschig HK, “Carmeliet P. Hypoxia and inflammation,” New England J. Medicine 364:656-65(2011).

22. Taylor CT, McElwain JC, “Ancient atmospheres and the evolution of oxygen sensing via the hypoxia-inducible factor in metazoans,” Physiology 25:272-9 (2010).

23. Benizri E, Ginouves A, Berra E, “The magic of the hypoxia-signaling cascade. Cellular and molecular life sciences,” CMLS 65:1133-49 (2008).

24. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL, “Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension,” PNAS USA 92:5510-4 (1995).
25. Barnes PJ, Karin M, “Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases,” New England J. Medicine 336:1066-71 (1997).
26. Whyte MK, Walmsley SR, “The regulation of pulmonary inflammation by the hypoxia-inducible factor-hydroxylase oxygen-sensing pathway,” Annals of the American Thoracic Society 11:Suppl. 5:S271-6 (2014).
27. Vadlapatla RK, Vadlapudi AD, Mitra AK, “Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1): a potential target for intervention in ocular neovascular diseases,” Current Drug Targets 14:919-35 (2013).
28. Mojsilovic-Petrovic J, Callaghan D, Cui H, Dean C, Stanimirovic DB, Zhang W, “Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) is involved in the regulation of hypoxia-stimulated expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) and MCP-5 (Ccl12) in astrocytes,” J. Neuroinflammation 4:12(2007).
29. Medina J, Arroyo AG, Sanchez-Madrid F, Moreno-Otero R, “Angiogenesis in chronic inflammatory liver disease,” Hepatology 39:1185-95(2004).

30. Jang JH, Cho YC, Kim KH, Lee KS, Lee J, Kim DE, et al., “BAI, a novel Cdk inhibitor, enhances farnesyltransferase inhibitor LB42708-mediated apoptosis in renal carcinoma cells through the downregulation of Bcl-2 and c-FLIP (L),” *Int. J. Oncology* 45:1680-90 (2014).
31. Narrima P, Paydar M, Looi CY, Wong YL, Taha H, Wong WF, et al, “*Persea declinata* (Bl.) kosterm bark crude extract induces apoptosis in MCF-7 cells via G0/G1 cell cycle arrest, Bcl-2/Bax/Bcl-xl signaling pathways, and ROS generation,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014: (2014).
32. Genin M, Clement F, Fattaccioli A, Raes M, Michiels C, “M1 and M2 macrophages derived from THP-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide,” *BMC Cancer* 15:577 (2015).
33. Kang S, Park KC, Yang KJ, Choi HS, Kim SH, Roh YJ, “Effect of cediranib, an inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase, in a mouse model of choroidal neovascularization,” *Clin. Exp. Ophthalmol.* 41:63-72 (2013).
34. Roh YJ, Rho CR, Cho WK, Kang S, “The Antiangiogenic Effects of Gold Nanoparticles on Experimental Choroidal Neovascularization in Mice,” *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 57:6561-67 (2016).

35. Jiao J, Mo B, Wei H, Jiang YR, “Comparative study of laser-induced choroidal neovascularization in rats by paraffin sections, frozen sections and high-resolution optical coherence tomography” Graefes Arch. Clin. Expt. Ophthalmol. 251:301-7 (2013).

【0274】本說明書中提及之所有公開案、專利及專利申請案以引用的方式併入本文中，其引用的程度如每個單獨的公開案、專利或專利申請經特定及單獨地指示以引用的方式併入一般。

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種包含作為活性劑之乳酸鈣及醫藥學上可接受之多醣及聚合物、脂質或其組合的醫藥組成物於製備藥物的用途，該藥物是用於治療阿茲海默氏病、帕金森氏病、多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、齒髓炎、發炎性腸病(IBD)、脊髓損傷、角膜炎、肝纖維化、肺纖維化及/或糖尿病性視網膜病變。

【請求項2】 如請求項1之用途，其中該藥物是用於治療多發性硬化症、年齡相關性黃斑變性、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及/或發炎性腸病(IBD)。

【請求項3】 如請求項1之用途，其中該藥物是用於治療NAFLD。

【請求項4】 如請求項1之用途，其中該藥物是用於治療IBD。

【請求項5】 如請求項1之用途，其中該藥物是用於治療多發性硬化症。

【請求項6】 如請求項1之用途，其中該藥物是用於治療年齡相關性黃斑變性。

【請求項7】 如請求項1至6中任一項之用途，其中該乳酸鈣與該多醣之一重量比為1:<0.2至1:5。

【請求項8】 如請求項1至6中任一項之用途，其中該聚合物與該脂質之重量比為1:0.1至1:50。

【請求項9】 如請求項8之用途，其中該乳酸鈣與該

聚合物及/或脂質之重量比為至少1:5。

【請求項10】 如請求項1至6中任一項之用途，其中該多醣為一纖維素衍生物、果膠、玻尿酸、澱粉、瓜爾膠、聚葡萄糖、明膠、膠原蛋白、海藻酸鹽、海藻酸或其等之組合。

【請求項11】 如請求項1至6中任一項之用途，其中該聚合物為一泊洛沙姆(poloxamer)、聚乙烯吡咯啉酮(polyvinylpyrrolidone)、聚乙二醇(PEG)、聚乙醇酸乳酸(polyglycolic lactic acid, PLGA)或其等之組合。

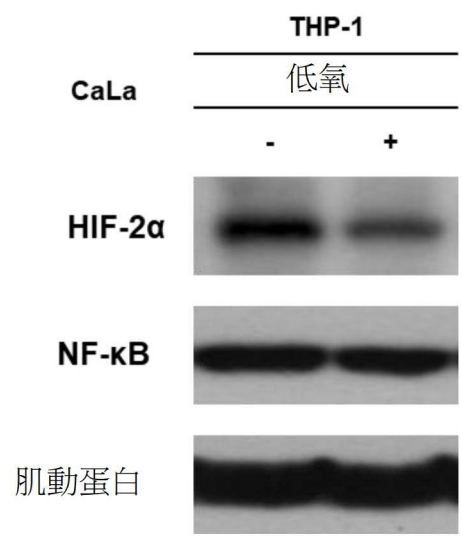
【請求項12】 如請求項1之用途，其中該脂質為一單脂肪酸甘油酯或三脂肪酸甘油酯或聚乙二醇、植物油之聚乙二醇酯、脂肪酸丙二醇酯、芝麻油、大豆油、蓖麻油、玉米油、棕櫚油、花生油、可可油、棉籽油、葵花籽油、紅花油、杏仁油、橄欖油、氫化油、油酸、次亞麻油酸(linolenic acid)、亞麻油酸(linoleic acid)、棕櫚酸、棕櫚油酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸、癸酸(capric acid)、辛酸(caprylic acid)、月桂酸、硬脂酸、油酸乙酯、棕櫚酸異丙酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、棕櫚酸鯨蠟酯、月桂醇、油醇、鯨蠟醇、硬脂醇或其等之組合。

【請求項13】 如請求項1至6中任一項之用途，其中該醫藥組成物進一步包含腸溶包衣。

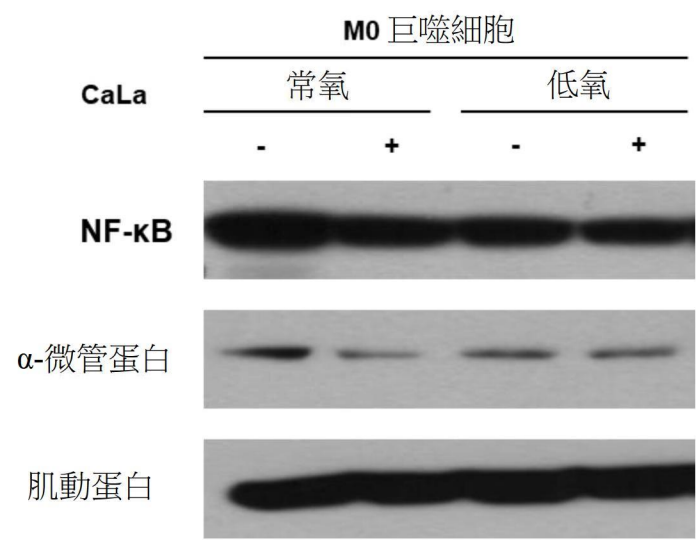
【請求項14】 如請求項13之用途，其中該腸溶包衣包含羥丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸酯(HPMCP)、鄰苯二甲酸乙酸纖維素(CAP)、聚乙酸乙烯酯鄰苯二甲酸酯

(PVAP)、蟲膠、甲基丙烯酸及其一酯之聚合物，或其等  
之組合。

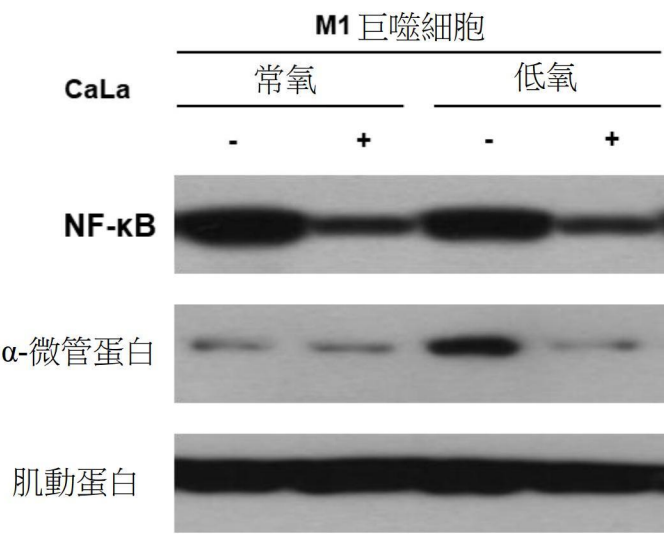
【發明圖式】



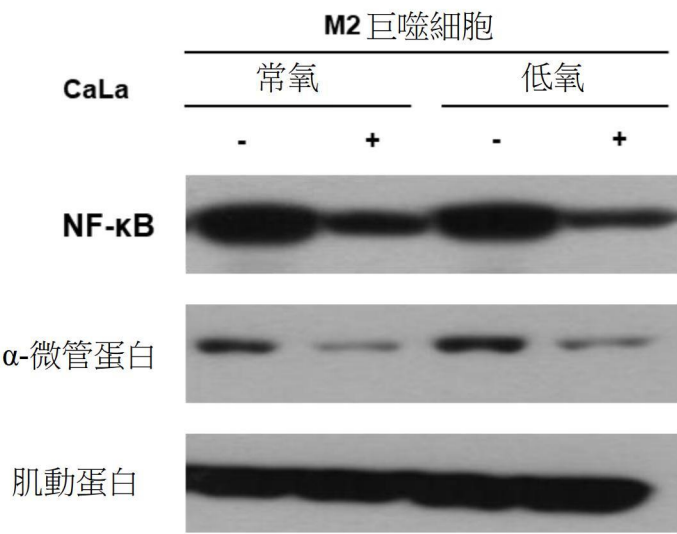
【圖1】



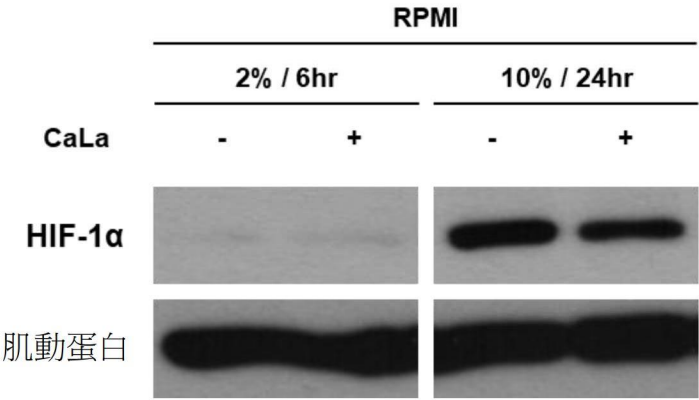
【圖2】



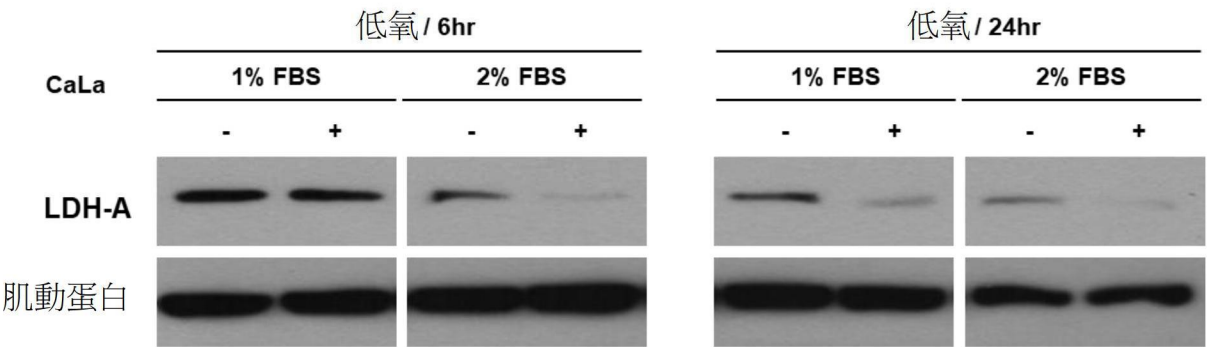
【圖3】



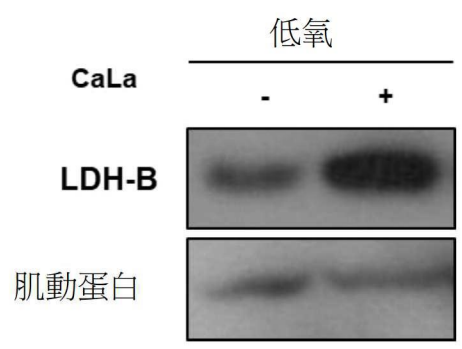
【圖4】



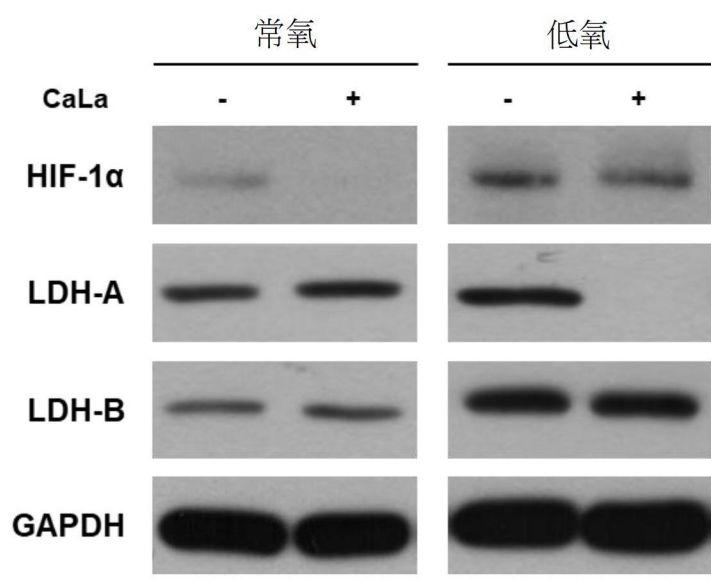
【圖5】



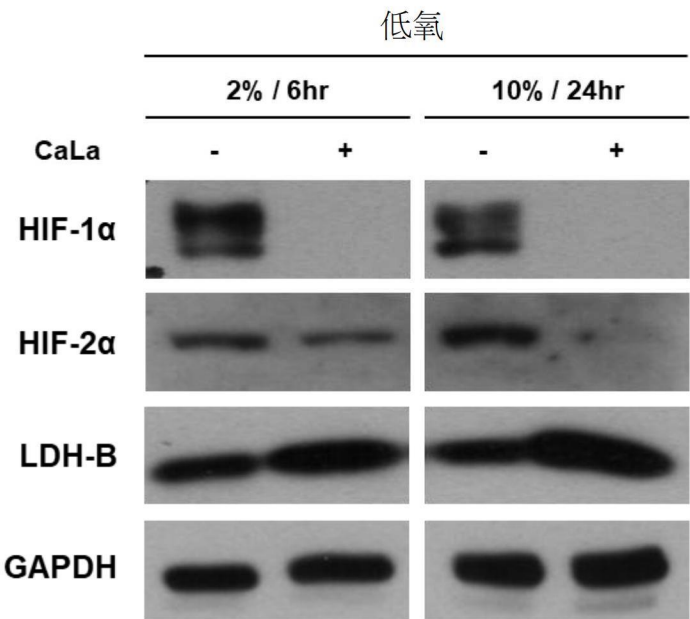
【圖6】



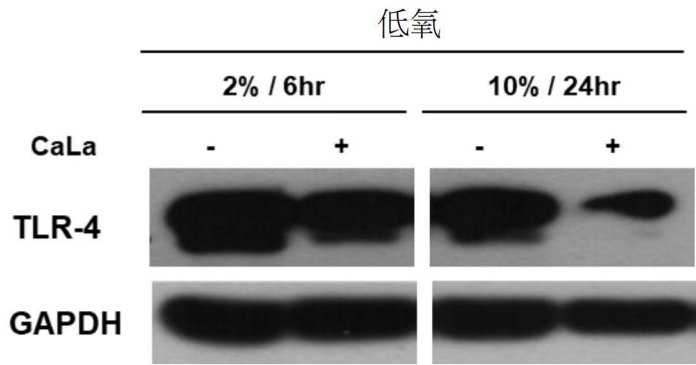
【圖7】



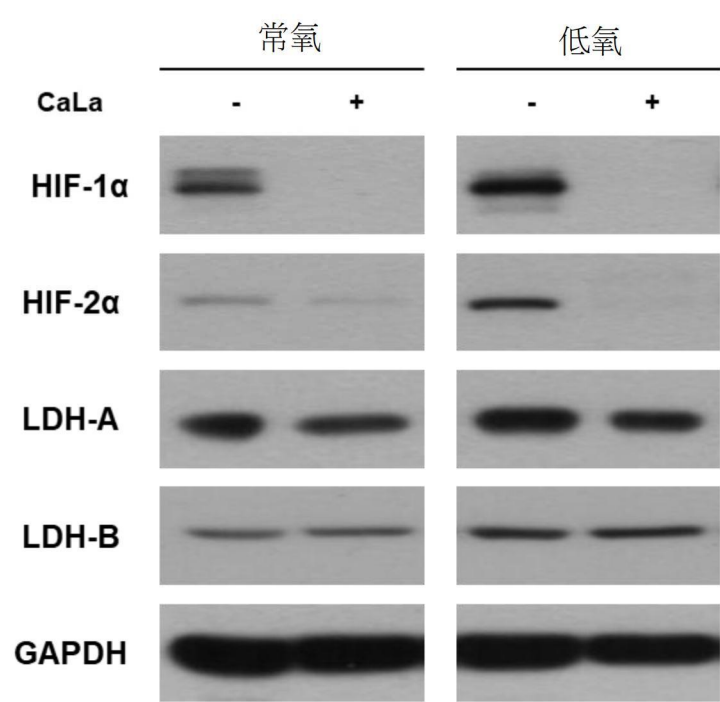
【圖8】



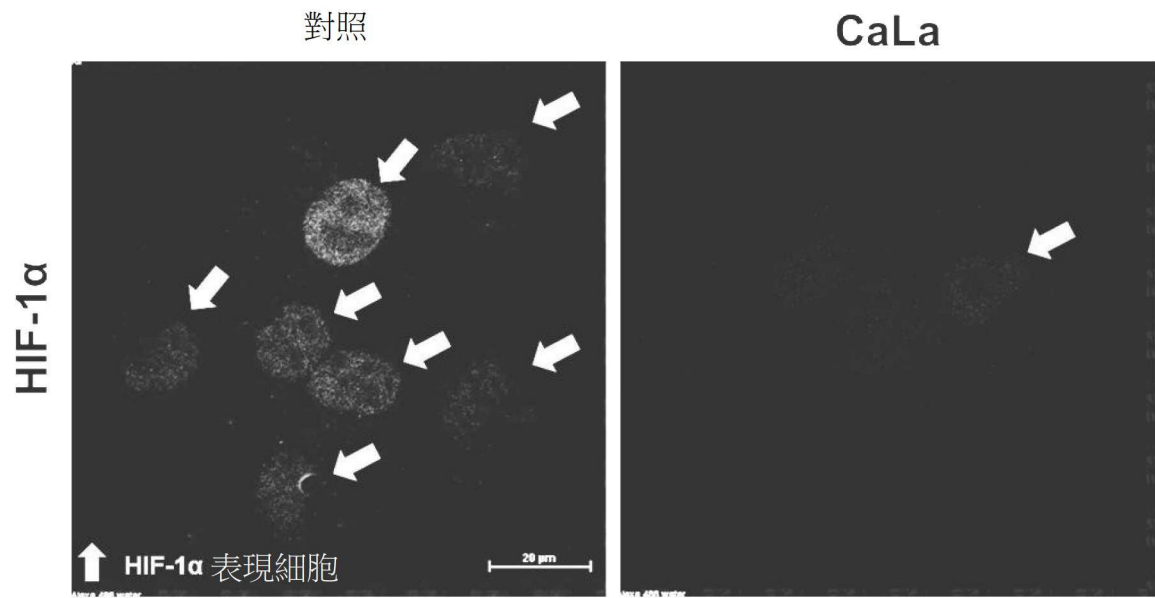
【圖9】



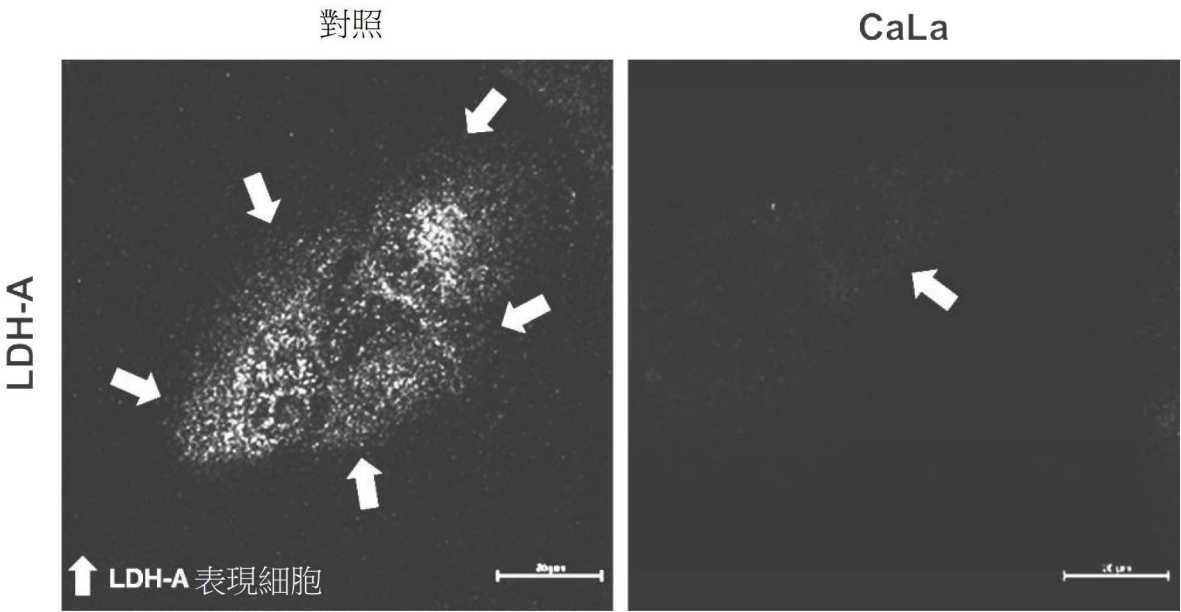
【圖10】



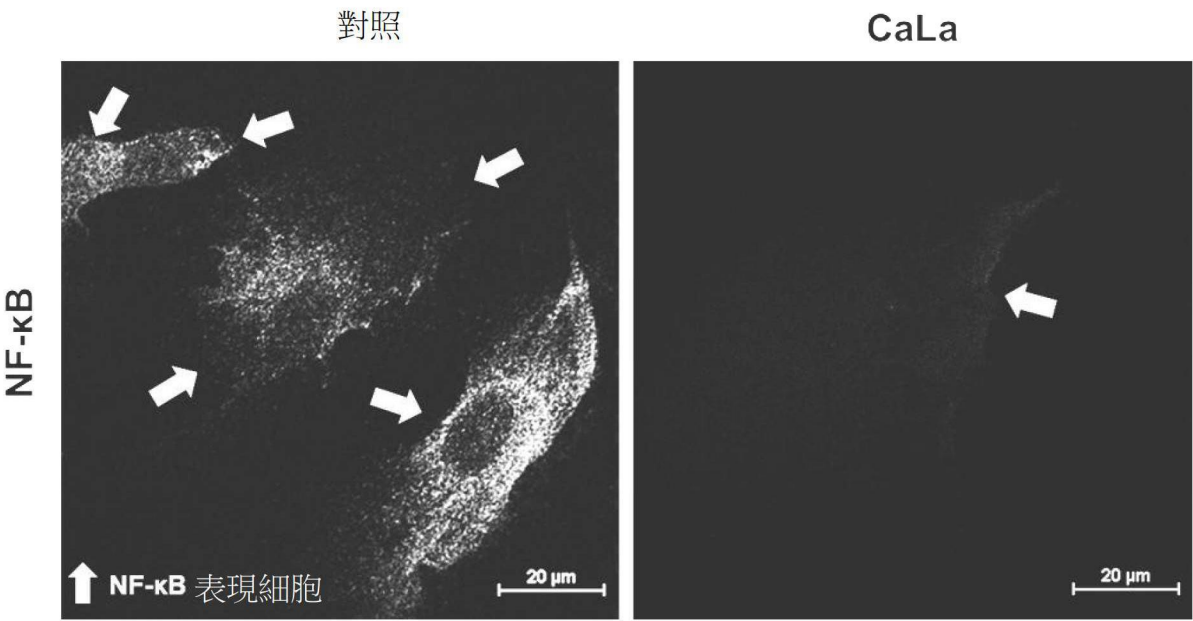
【圖11】



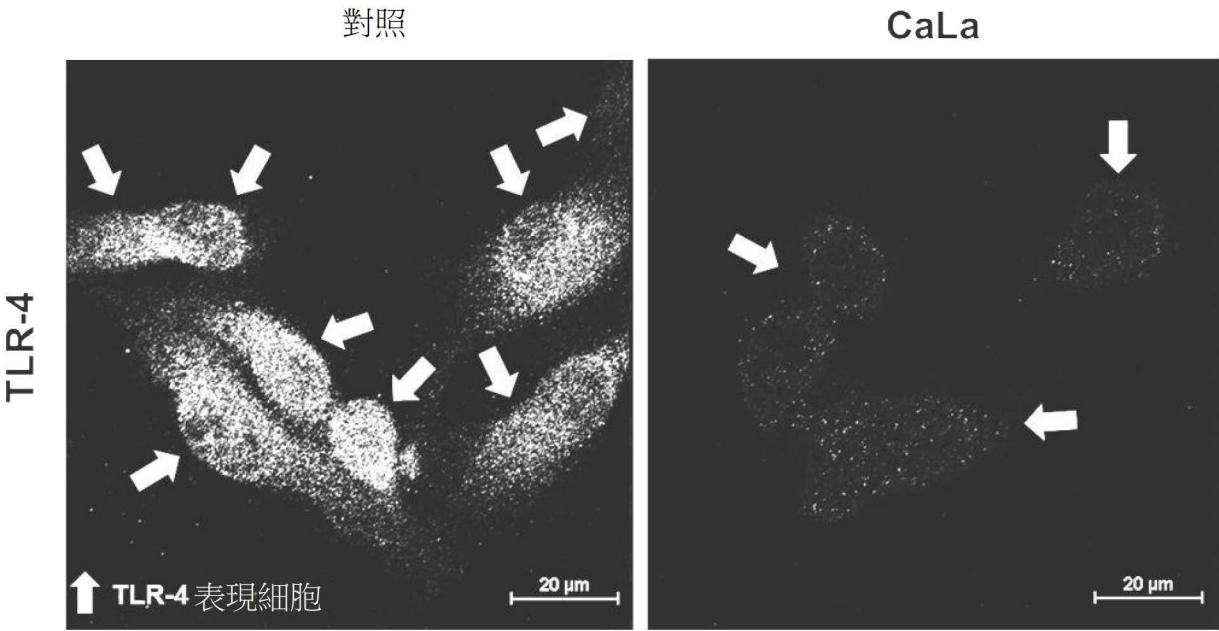
【圖12】



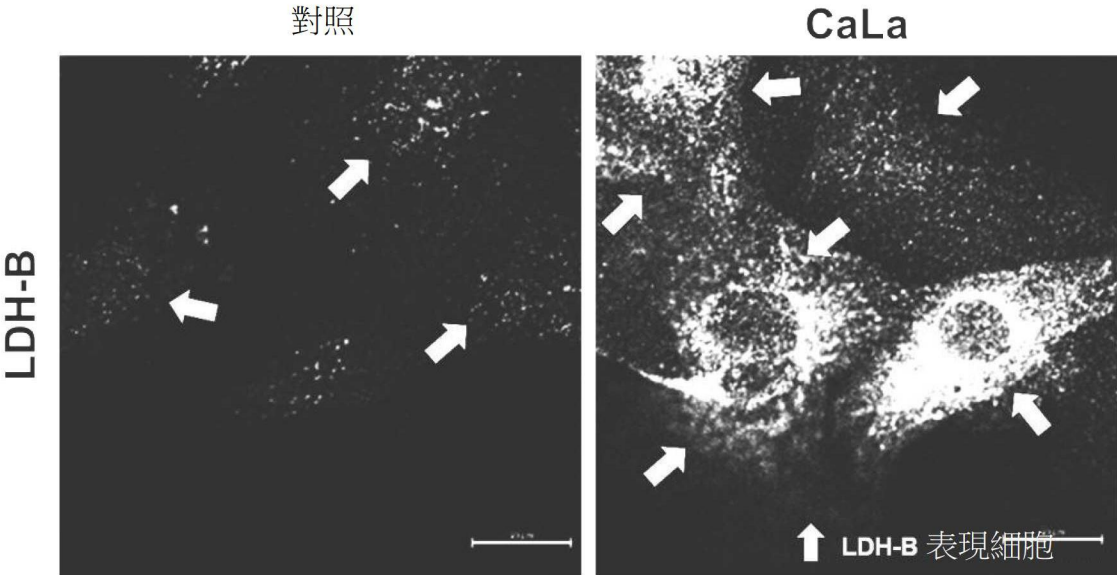
【圖13】



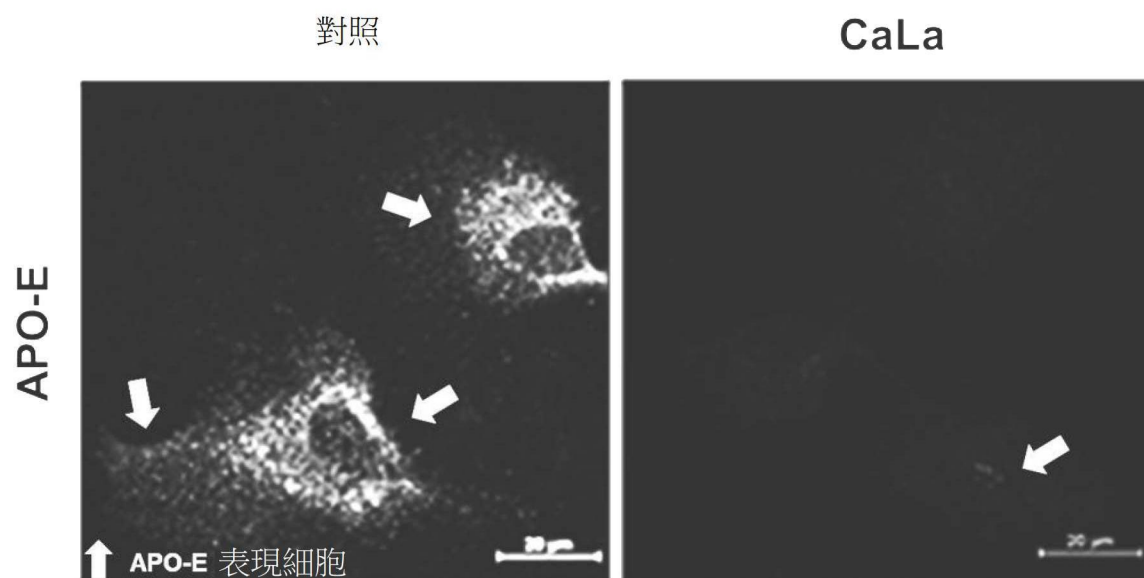
【圖14】



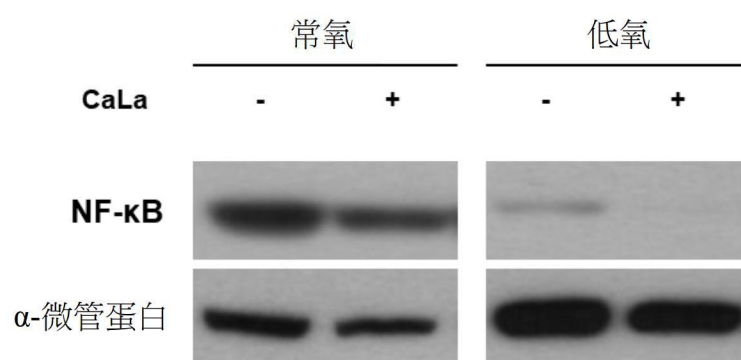
【圖15】



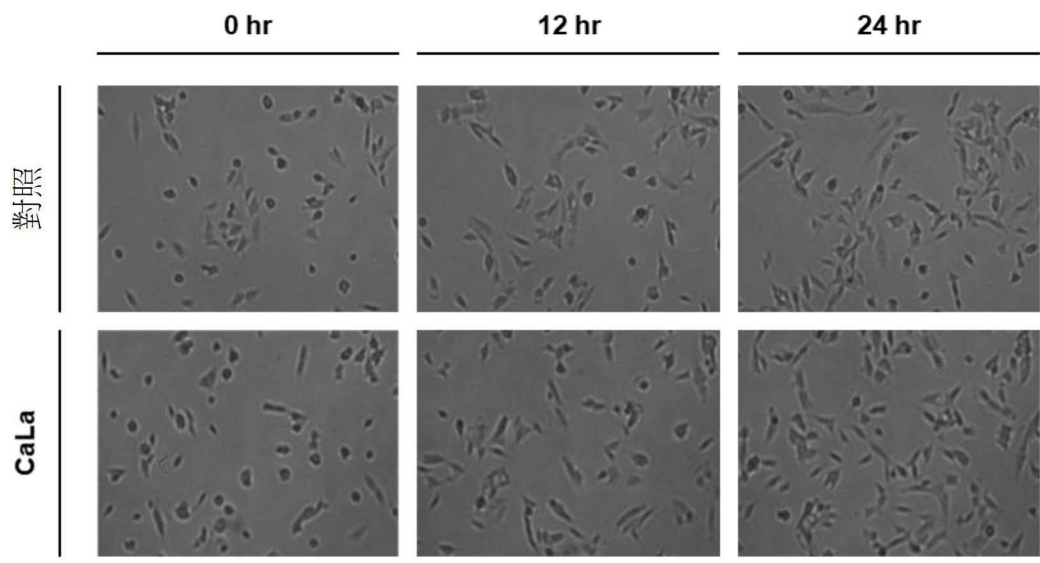
【圖16】



【圖17】

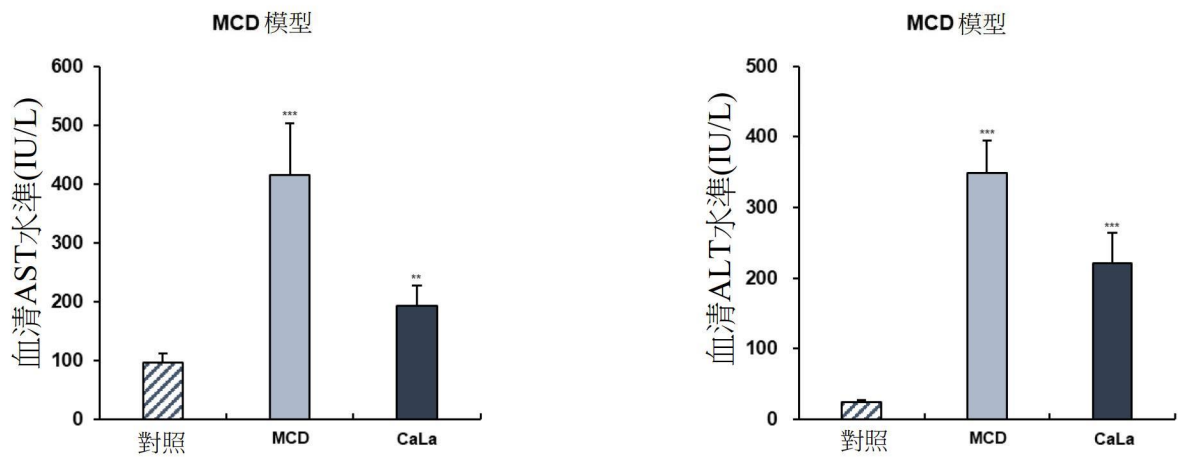


【圖18】



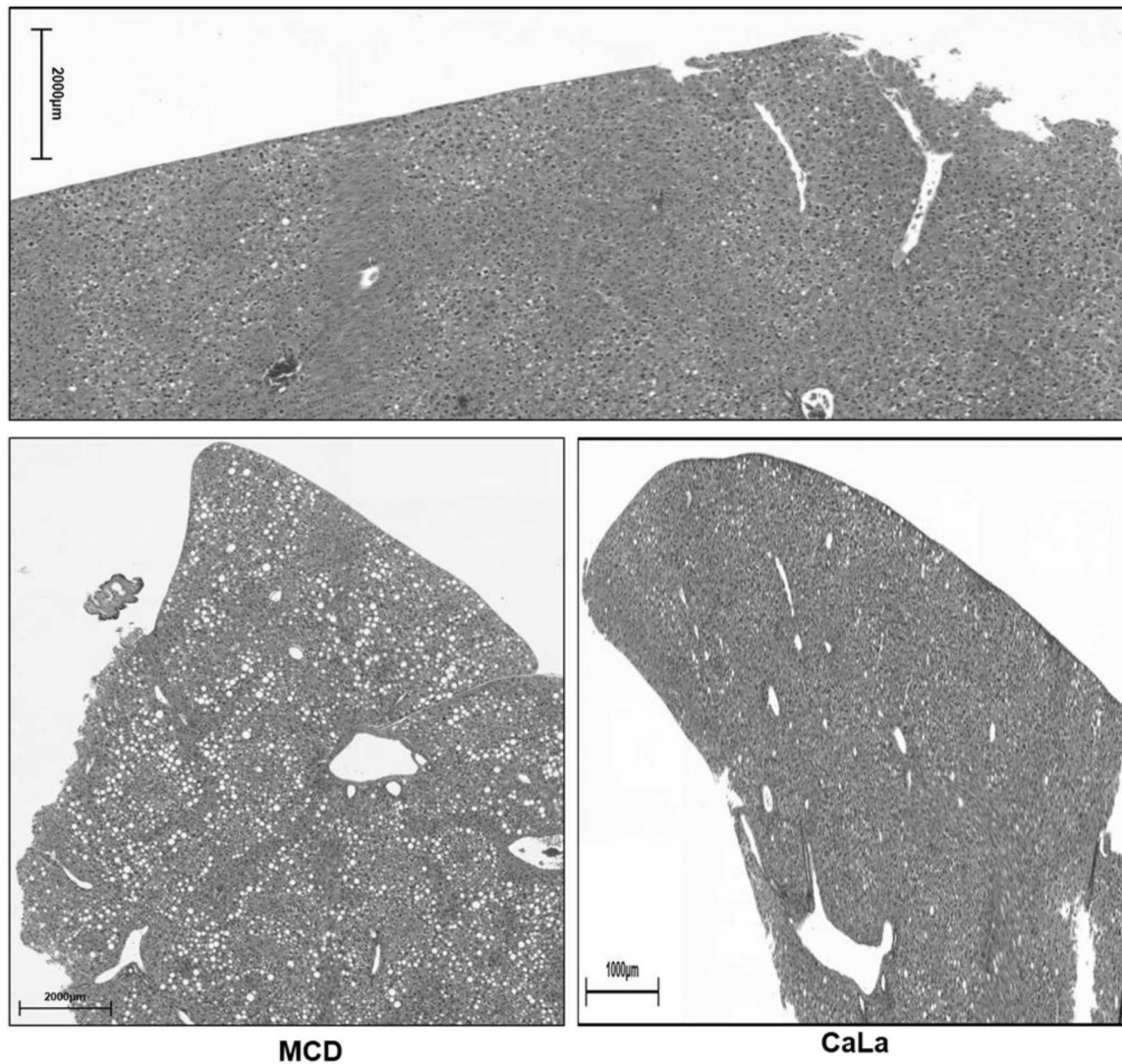
【圖19】

[血液化學]-脂毒性

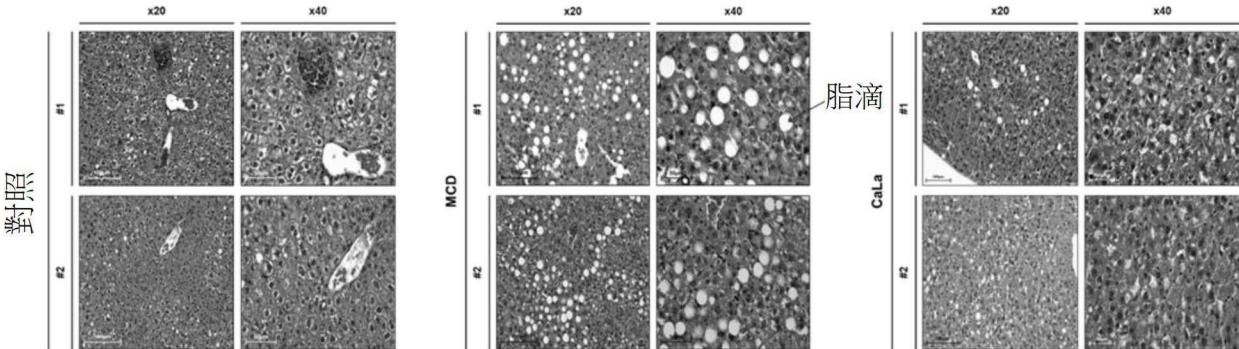


【圖20】

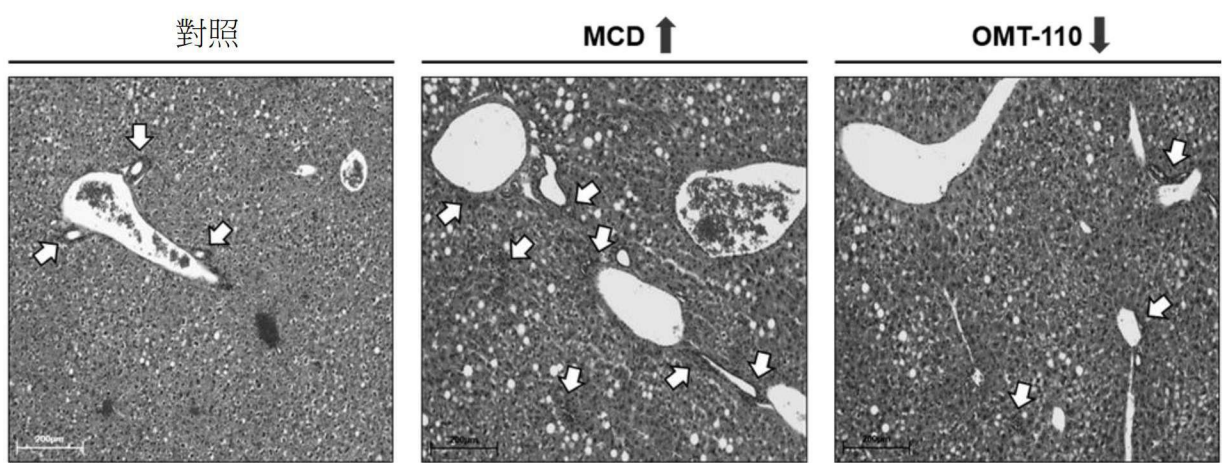
對照



【圖21】

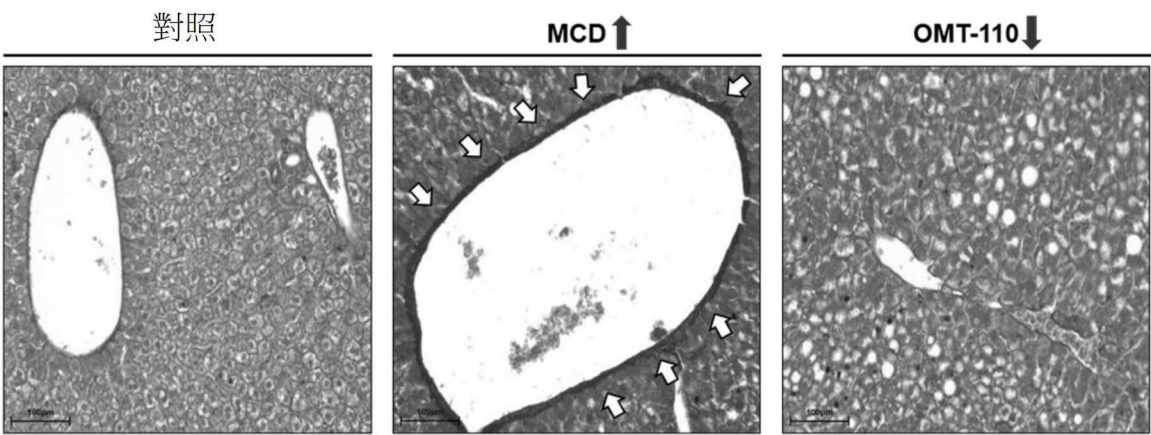


【圖22】



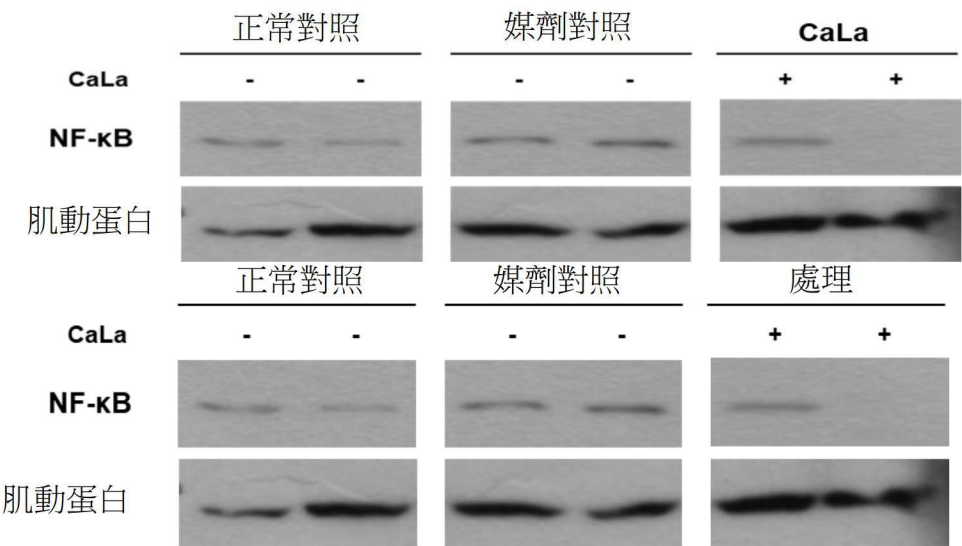
➡ 免疫細胞浸潤之比較(對照與各組)

【圖23】

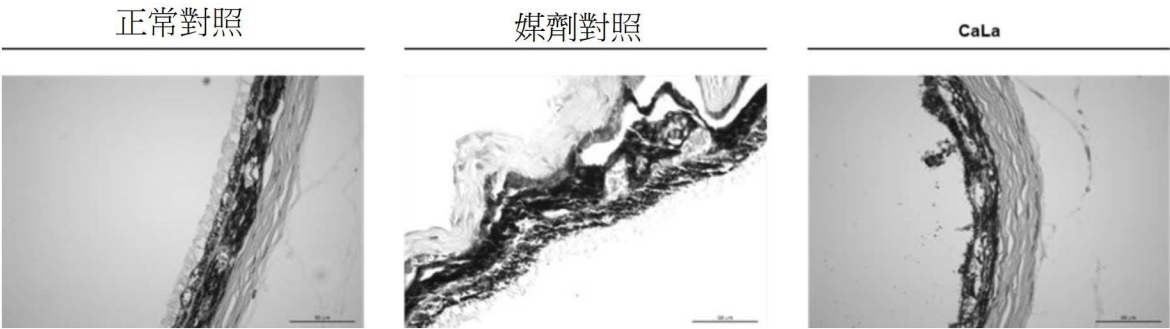


➡ 膠原蛋白積聚之比較(對照與各組)

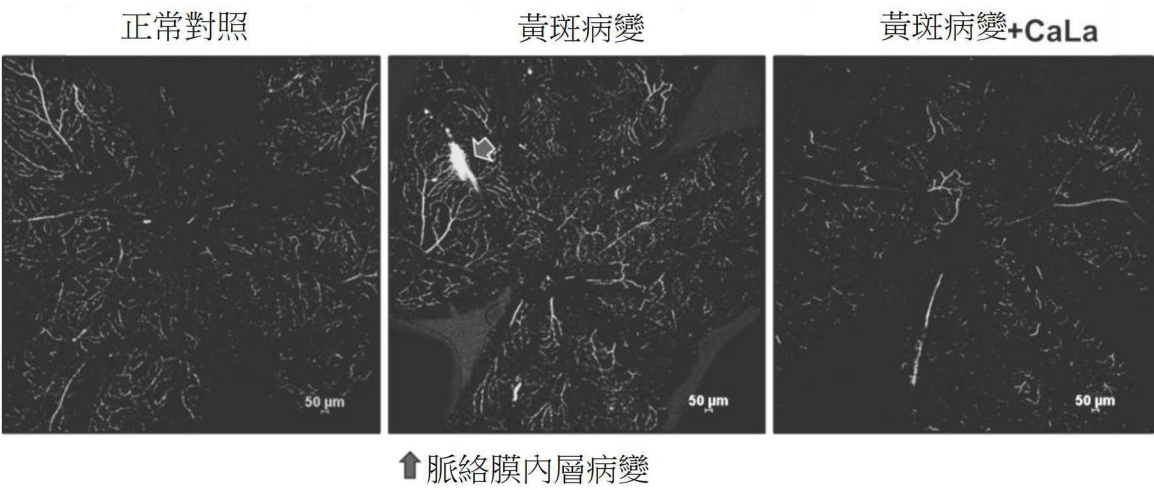
【圖24】



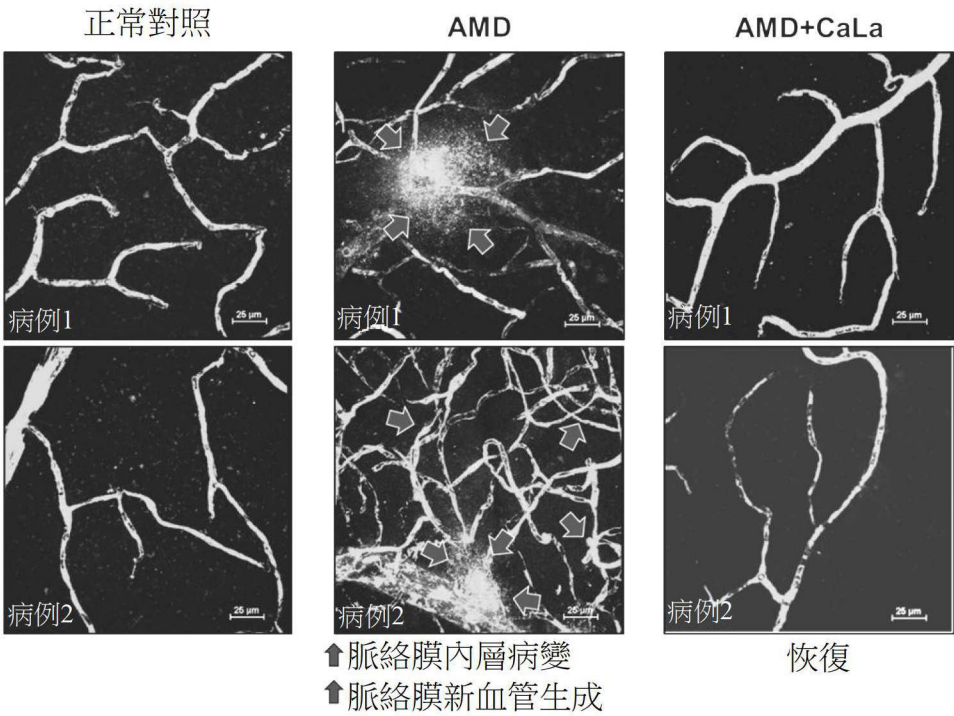
【圖25】



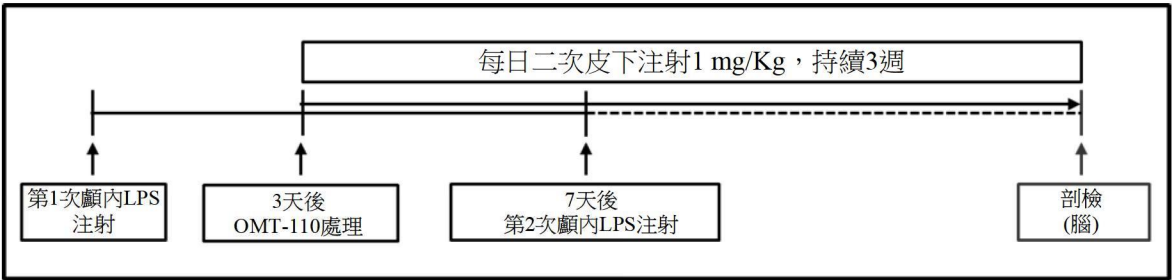
【圖26】



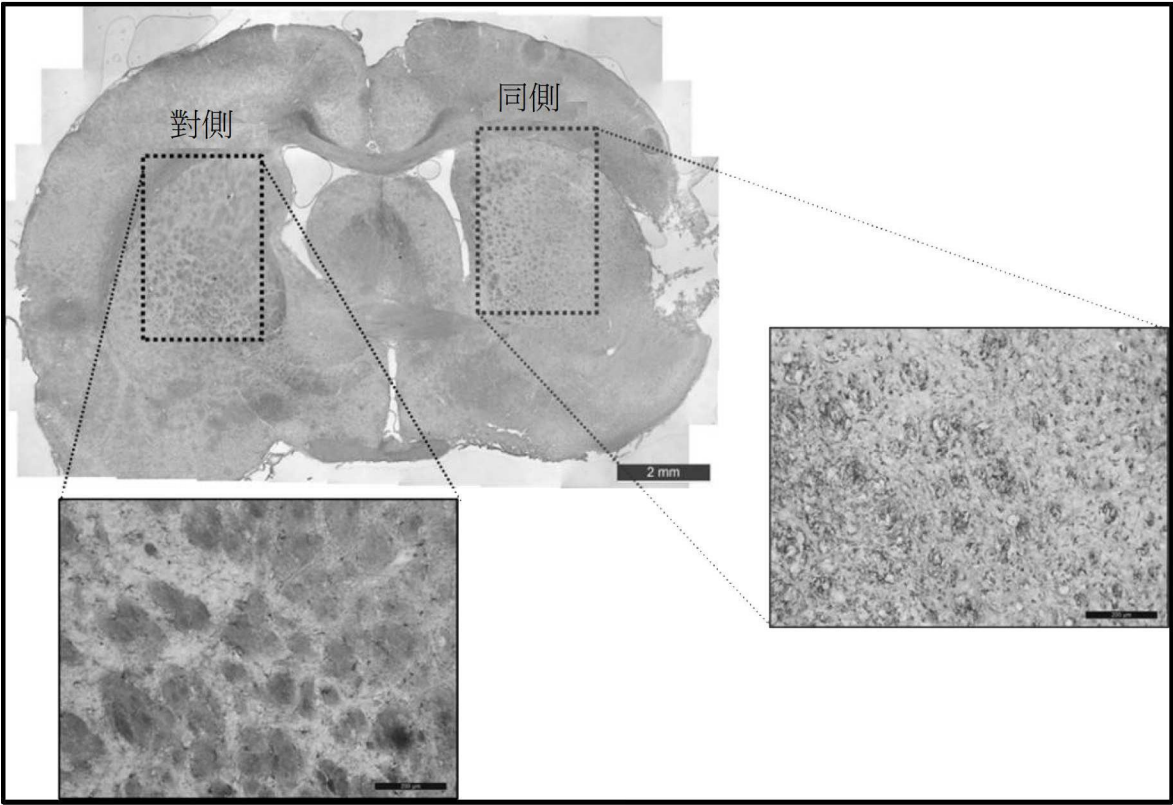
【圖27】



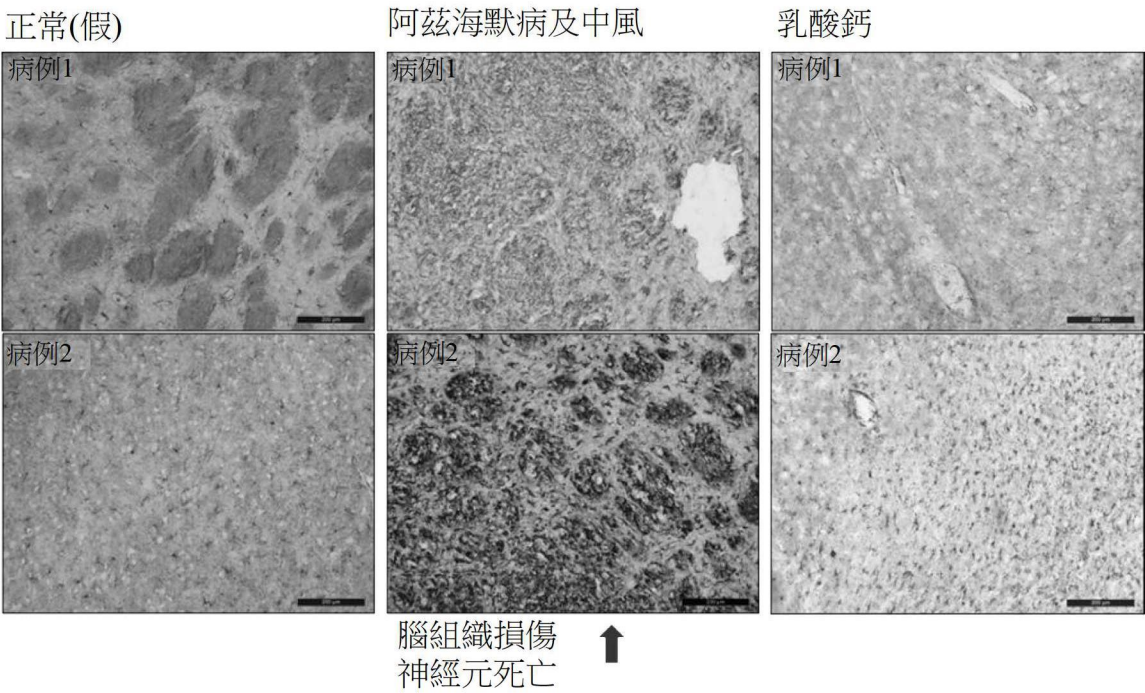
【圖28】



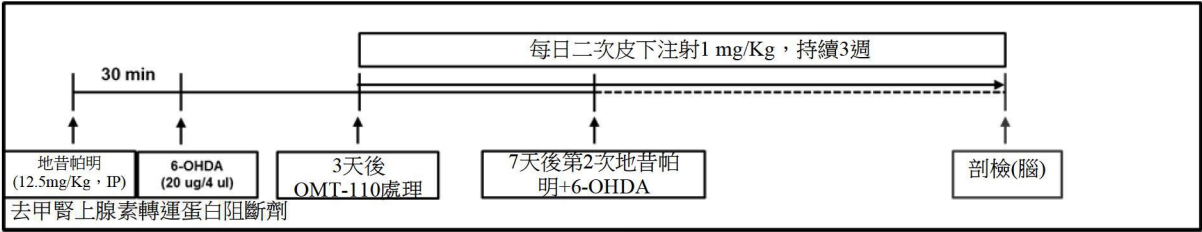
【圖29】



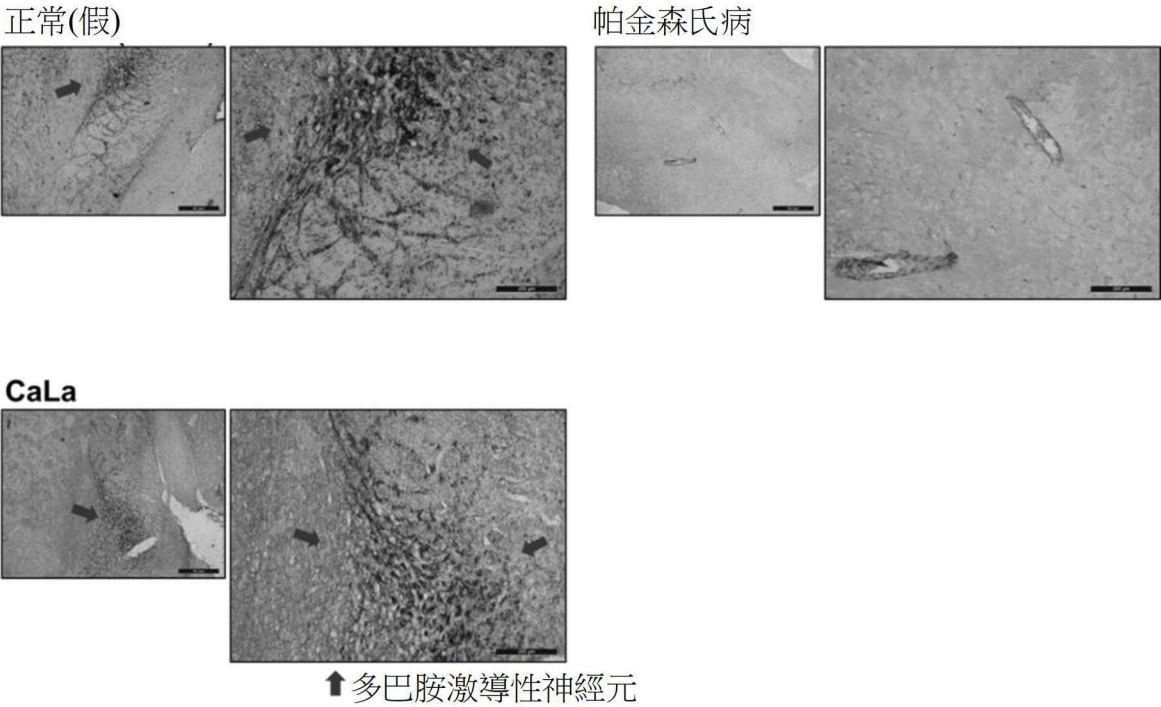
【圖30】



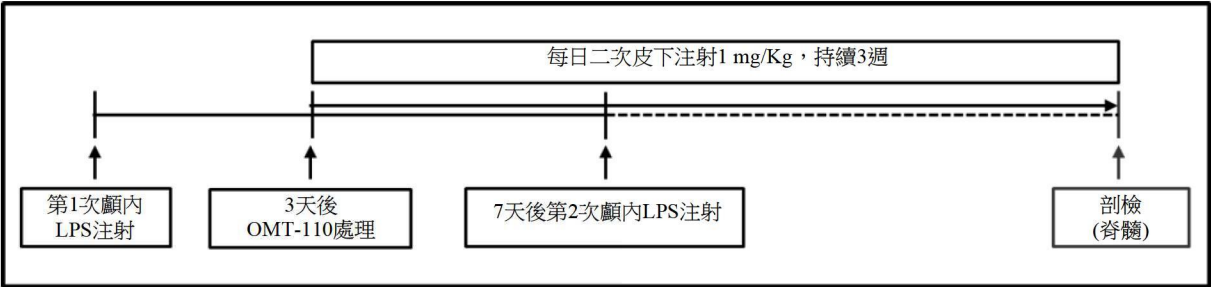
【圖31】



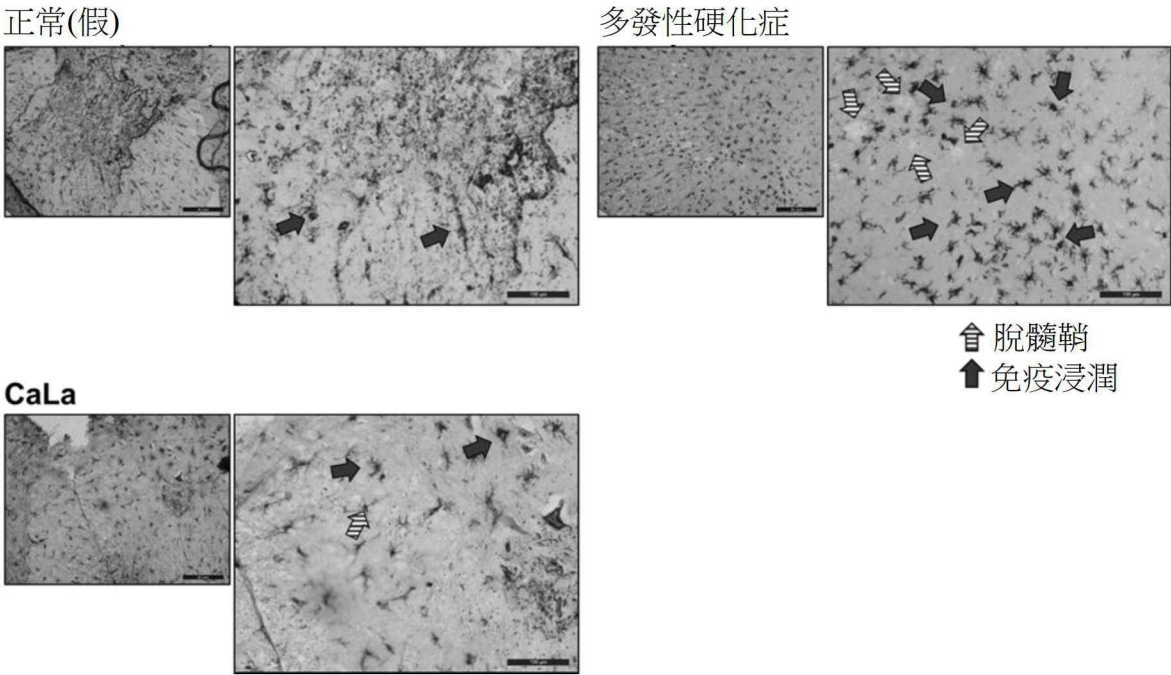
【圖32】



【圖33】

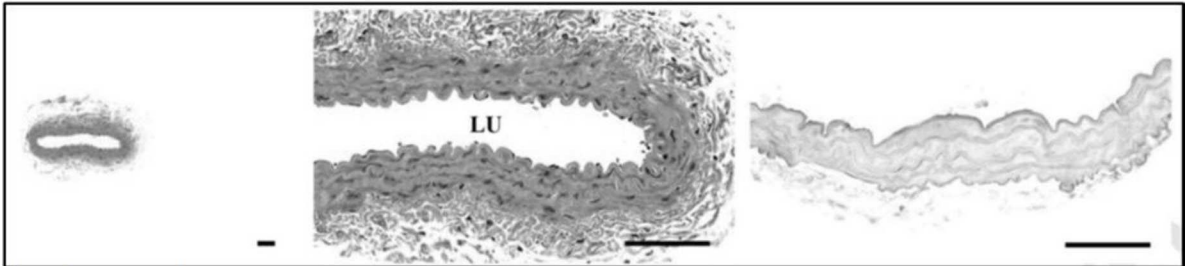


【圖34】

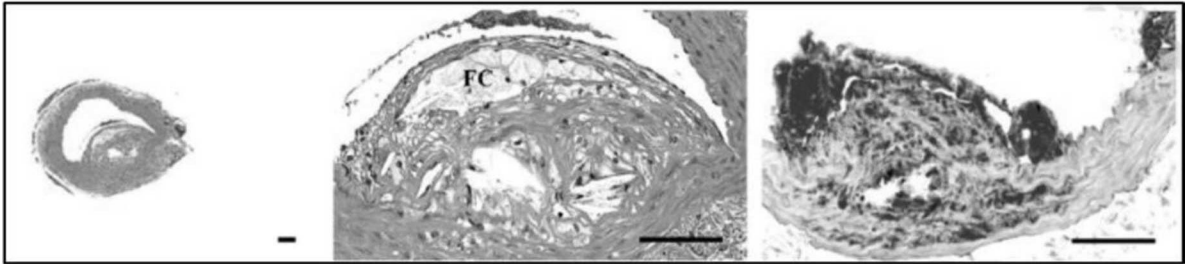


【圖35】

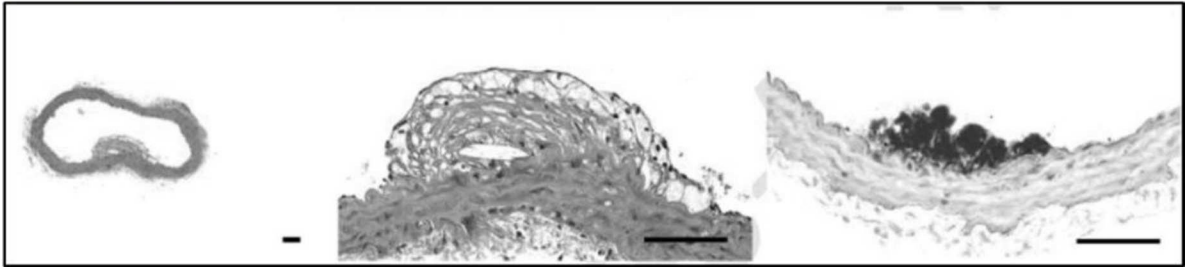
對照



動脈粥樣硬化



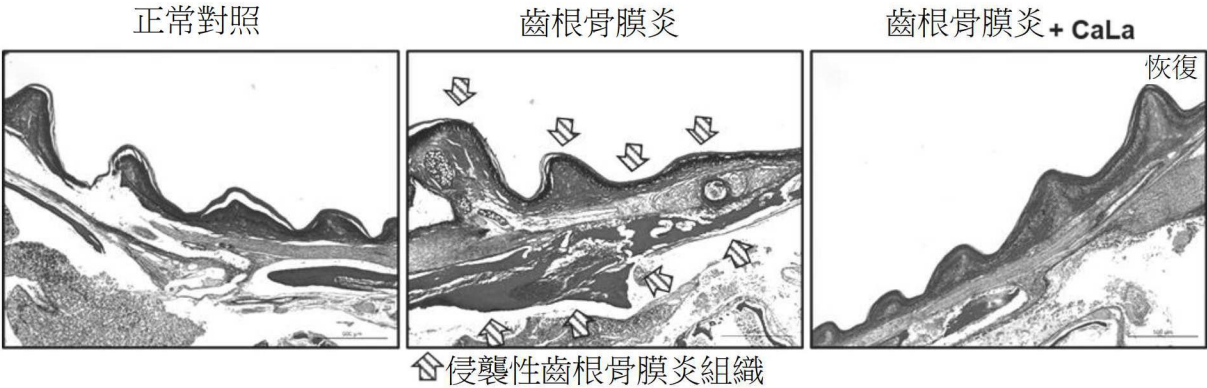
動脈粥樣硬化+CaLa



【圖36】

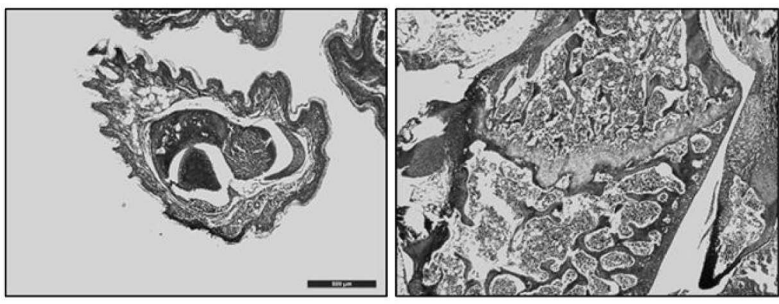


【圖37】

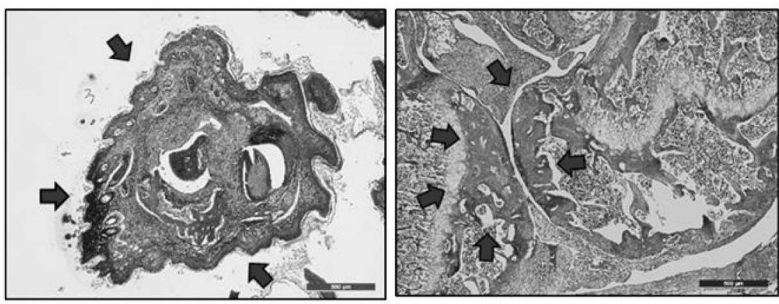


【圖38】

對照

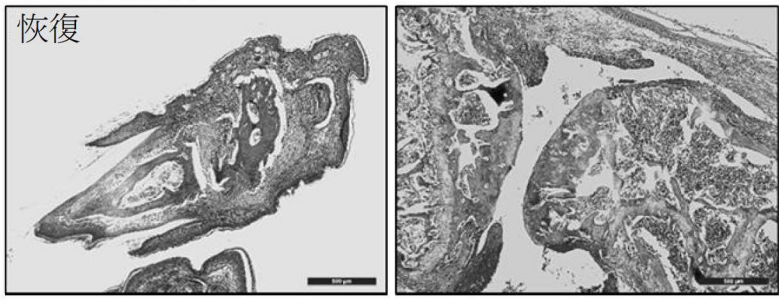


類風濕性關節炎



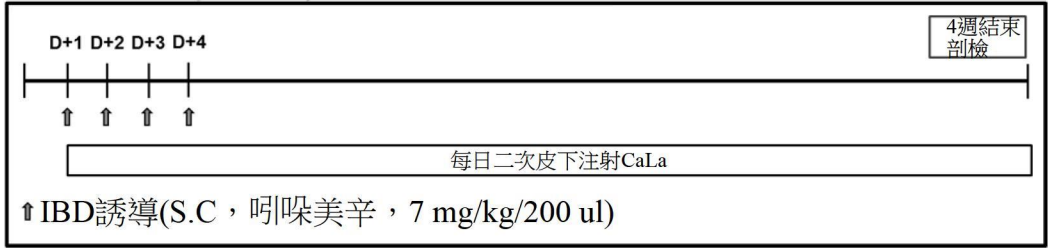
↑因炎症而腫脹

類風濕性關節炎+CaLa



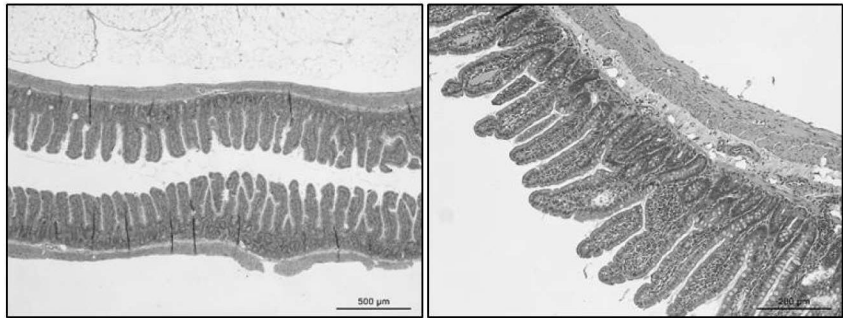
【圖39】

IBD大鼠模型(克羅恩氏病)

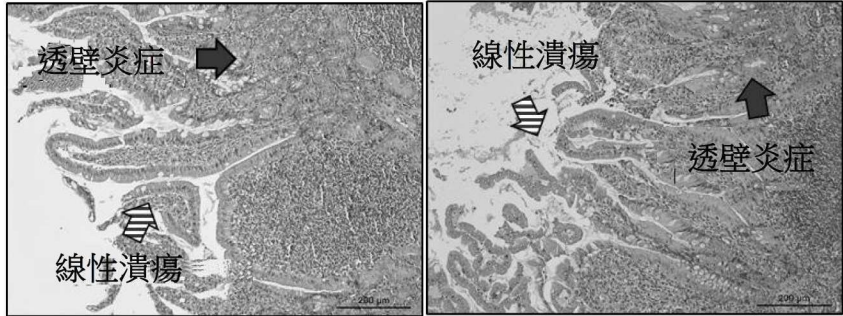


【圖40】

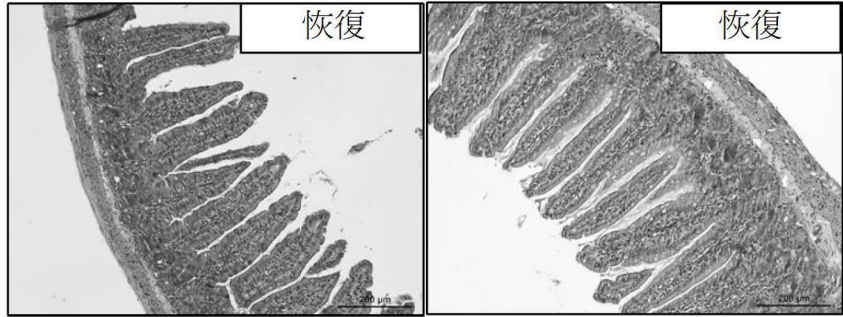
正常



克羅恩氏病

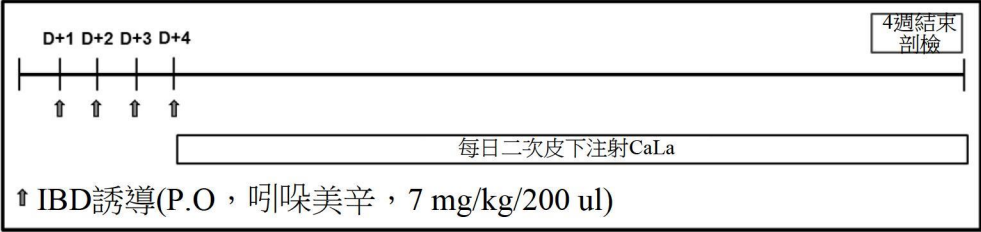


克羅恩氏病+CaLa



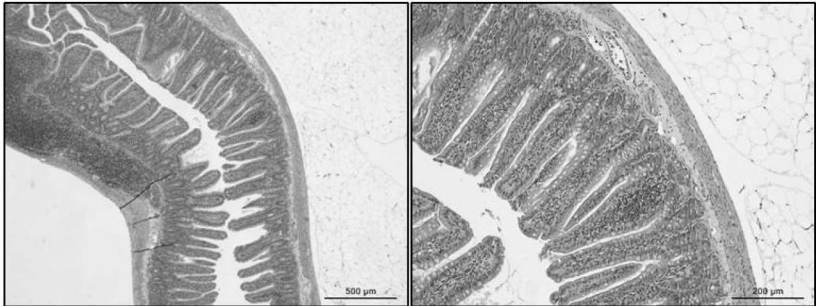
【圖41】

IBD大鼠模型(結腸炎)

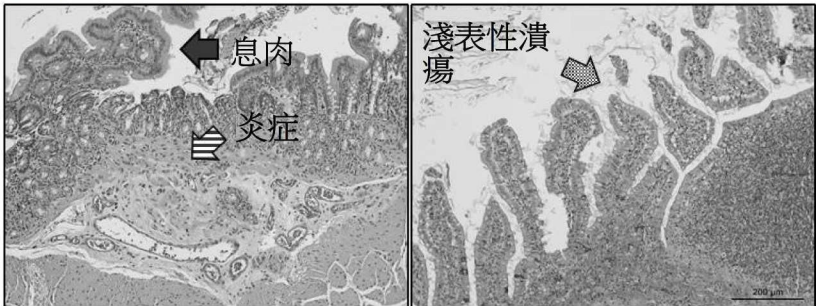


【圖42】

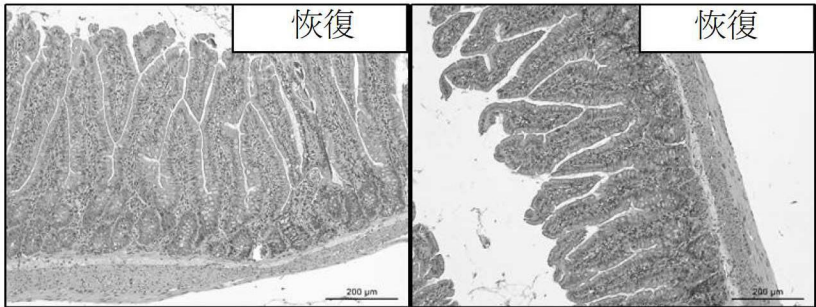
正常



結腸炎(潰瘍性)



結腸炎+CaLa



【圖43】