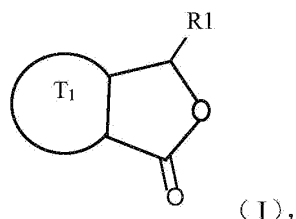


说明书

发明名称: 提高活性成分的生体可用率的组成物与方法

技术领域

[0001] 本发明关于一种提高活性成分的生体可用率(bioavailability, BA)的方法, 其包含使该活性成分并入一油性介质系统中。本发明也关于一种包含该油性介质系统与该活性成分的组成物。于前述方法与组成物中, 所涉油性介质系统含有植物油及/或植物油的成分, 但不含以下物质: 磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬脂酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯; 此外, 所涉活性成分选自以下群组: 式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合,



[0002] 其中, T_1 为C6环烃, 以及 R_1 为C1-C8脂肪族烃基。

背景技术

[0003] 脑癌与胰脏癌皆属于高浸润性、高复发率、高致死率且预后情况不佳的癌症。脑癌可能发生于各年龄层, 针对退行性星状细胞瘤(anaplastic astrocytoma)及多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)等为常见的恶性脑瘤, 传统的外科手术治疗虽可切除大部分的肿块, 但无法有效根除全部的癌细胞, 必须辅以其他方式(例如化学疗法及放射线疗法)。至于胰脏癌, 由于胰脏癌细胞经常发生迁移、侵袭、转移至周边的神经或血管组织的现象, 因此大部分的胰脏癌患者在发现时都已无法通过外科手术治疗, 而必须以化学疗法作为优先的治疗方式。

[0004] 然而, 目前临床上用于脑癌或胰脏癌的化学药物仍相当有限, 且治疗效果大多偏低, 故仍须持续开发可有效治疗脑癌或胰脏癌的药物或方法。

[0005] 研究显示，亚丁基苯酐除可用于延缓或治疗肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、脊髓性小脑萎缩症(spino cerebellar ataxia)、阿兹海默症等神经性疾病以外，也可用于治疗中风等脑血管疾病、改善糖尿病、对抗肝、肺纤维化等功效，且具有优异的毒杀脑癌与胰脏癌细胞的效果而可应用在癌症治疗领域。

[0006] 亚丁基苯酐虽具前述药效，但在应用上仍有限制，主要原因在于肝脏代谢排除作用会使得亚丁基苯酐的生体可用率(bioavailability)降低，往往需要投予更高的剂量才能达到所欲疗效，此导致全身副作用风险的增加、加剧患者的负担。前述因生体可用率而必须提高投用量所引发的问题，在口服投药的情形尤其严重。因此，若可有效提高活性成分的生体可用率，将可避免不必要的剂量增加，解决应用上的限制，为患者提供更有效的治疗方式。

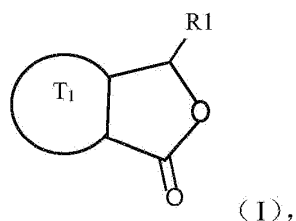
[0007] 发明内容

[0008] 本案发明人研究发现，本发明活性成分(即，式(I)化合物及/或其医药上可接受的盐)在本发明油性介质系统中的溶解度良好，且可长时间(例如室温下储存长达二年)稳定地存在于该油性介质系统中。进一步研究发现，当将本发明活性成分以并入油性介质系统中的形式投用，可提高该活性成分的生体可用率，从而得以避免增量使用才可提供所欲治疗效益的问题，减缓或免除不必要的副作用。

[0009] 因此，本发明的一目的在于提供一种组成物，其包含：

[0010] (1)一油性介质系统，其含有植物油及/或植物油的成分，但不含以下物质：磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬脂酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯；以及

[0011] (2)一活性成分，其选自由以下所组成的群组：式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



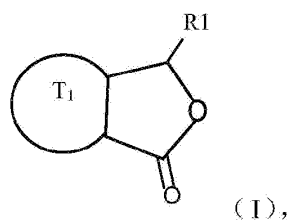
[0012] 其中，T₁为C₆环烃，以及R₁为C₁–C₈脂肪族烃基。

[0013] 较佳地，该组成物用于提高该活性成分的生体可用率。该组成物较佳是一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组成物。其中，当该组成物是一医药组成物，其呈口服或舌下给药形式；或者，当该组合是一食品组成物，其是保健食品、膳食补充品、机能性食品、营养补充食品或特殊营养食品。

[0014] 本发明的又一目的在于提供一种提高一活性成分的生体可用率的方法，其包含使该活性成分并入一油性介质系统中，其中：

[0015] (1)该油性介质系统含有植物油及/或植物油的成分，但不含以下物质：磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬酯酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯；以及

[0016] (2)该活性成分选自由以下所组成的群组：式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，

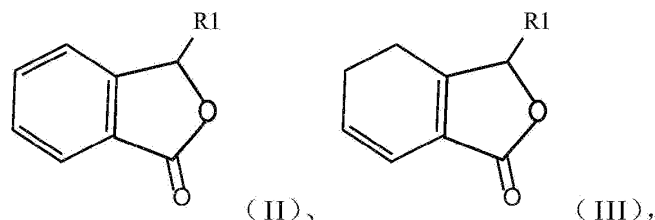


[0017] 其中， T_1 为C6环烃，以及 R_1 为C1-C8脂肪族烃基。

[0018] 较佳地，合并后的油性介质系统与活性成分呈一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组成物的形式。较佳地，当该合并后的油性介质系统与活性成分呈一医药组成物的形式时，其用于口服或舌下给药；当该合并后的油性介质系统与活性成分呈一食品组成物的形式时，其是保健食品、膳食补充品、机能性食品、营养补充食品或特殊营养食品。

[0019] 于上述根据本发明的组成物或方法中，所涉植物油较佳选自由以下所组成的群组：芝麻油、紫苏油、印加果油、玄米油、大豆油、沙棘果油、椰子油、玉米油、棕榈油、花生油、葡萄籽油、红花籽油、南瓜籽油、杏仁油、腰果油、榛果油、核桃仁油、黑豆油、松子油、黑种草油、月见草油、芝麻叶精油、芥花油、棉籽油、橄榄油、菜籽油、葵花油、山核桃油、开心果油、蓖麻油、及前述的组合。更佳地，该植物油选自以下所组成的群组：芝麻油、大豆油、芥花油、及前述的组合。

[0020] 于上述根据本发明的组成物或方法中，所涉活性成分较佳选自以下所组成的群组：式(II)化合物、其医药上可接受的盐、式(III)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



[0021] 其中，R₁为C1-C6脂肪族烃基(较佳为C4烷基或烯基)。

[0022] 于上述根据本发明的组成物或方法中，以每毫升该油性介质系统的体积计，该活性成分的浓度较佳为0.001毫克/毫升至1,500毫克/毫升；此外，该油性介质系统与该活性成分的体积比较佳为1：15至30：1。

附图说明

[0023] 图1为根据本发明的不同实施方案的组成物在配置完成后的外观照片图。

[0024] 图2为将根据本发明的一实施方案的组成物制成软胶囊后的外观照片图，图3A为该软胶囊制成时的内容物的HPLC分析图谱，图3B为该软胶囊在储存一年后的内容物的HPLC分析图谱，图3C则为ACN(即，空白组)的HPLC分析图谱。

[0025] 图4为根据本发明的不同实施方案的组成物在储存二年后的外观照片图。

[0026] 图5显示将根据本发明的一实施方案的组成物投予至大鼠后，在不同时间点所抽取的血清中的活性成分浓度的折线图。

[0027] 图6显示将根据本发明的一实施方案的组成物投予至人类个体后，在不同时间点所抽取的血清中的活性成分浓度的折线图。

[0028] 图7显示，相较于空白组脑癌细胞株1XM(或空白组胰脏癌细胞株Mia-PaCa2)，经不同处理的脑癌细胞株1XM(或胰脏癌细胞株Mia-PaCa2)的相对存活率的长条图，其中，“***”表示两组之间的p值<0.001。

[0029] 图8显示，相较于空白组脑癌细胞株1XM，经不同处理的脑癌细胞株1XM的相对存活率的长条图，其中，“***”表示两组之间的p值<0.001，“**”表示两组之间的p值<0.01，“*”表示两组之间的p值<0.05。

具体实施方式

- [0030] 以下将描述本发明的详细技术内容及部分具体实施方案，以供本发明所属领域技术人员据以明了本发明的特征；但，在不背离本发明精神下，本发明尚可以不同形式的方案来实践，不应将本发明保护范围解释为限于说明书所具体陈述者。
- [0031] 除非文中有另外说明，于本说明书中(尤其是在后述专利申请范围中)所使用的“一”、“该”及类似用语应理解为包含单数及复数形式；所使用的数值范围(例如5至100)应理解为也包含在该范围中的所有有理数以及在该范围中的任何有理数所组成的范围，故包含介于所列举的最低值与最高值之间的数值的所有可能组合；“毫克/公斤体重”指每公斤个体体重的使用剂量；所谓“个体”指哺乳动物，包括人类或非人动物；生体可用率(Bioavailability, BA)指药品有效成分(又称活性成分)由制剂中吸收进入全身血液循环或作用部位的速率(rate)与程度(extent)的指标。
- [0032] 已知活性成分的生体可用率(BA)，可以通过对生物体投予该活性成分之后，生物体的血清中的活性成分浓度随时间变化的曲线图所提供的资讯得知。简言之，先对生物体投予该活性成分，并在投用后以特定时间间隔持续对生物体进行血清采样，其后分析样品中的活性成分浓度并绘制浓度对时间的曲线图，再计算曲线下方的面积(Area Under Curve, AUC)，则AUC的数值与生体可用率呈现正相关的关系，AUC越高代表该活性成分的生体可用率越高，反之，越低的AUC则表示该活性成分的生体可用率越低。前述可参见例如Drug Bioavailability(National library of medicine.Gary Price; Deven A.Patel.2023年7月30日)，其全文并于此处以供参考。
- [0033] 已知本发明式(I)化合物在神经性疾病、脑血管疾病、及/或癌症具有一定的治疗效益，但其应用仍有限制，究其原因，主要在于其偏低的生体可用率($AUC < 300$ 纳克 $\times$ 时间/毫升)，往往需要投予更高的剂量才能达到所欲疗效，此导致全身副作用风险的增加、加剧患者的负担。前述因生体可用率而必须提高投用量所引发的问题，在口服投药的情形尤其严重。前述可参见例如Curr Drug Metab.201

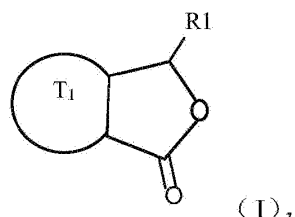
2Jun 1; 13(5):524-34.以及Drug Metab Dispos.2008Feb; 36(2):400-8., 前述文献的全文并于此处以供参考。

[0034] 针对前述应用上的限制, 本案发明人研究发现, 式(I)化合物及/或其医药上可接受的盐在本发明油性介质系统中的溶解度良好, 且可长时间(例如室温下储存长达二年)稳定地存在于该油性介质系统中。进一步研究发现, 当将本发明活性成分以并入油性介质系统中的形式投用, 可提高该活性成分的生体可用率, 从而得以避免增量使用才可提供所欲治疗效益的问题, 减缓或免除不必要的副作用。

[0035] 因此, 本发明关于一种组成物, 其包含:

[0036] (1)一油性介质系统, 其含有植物油及/或植物油的成分, 但不含以下物质: 磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬脂酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯; 以及

[0037] (2)一活性成分, 其选自由以下所组成的群组: 式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合,



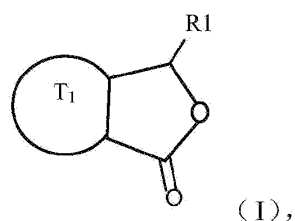
[0038] 其中, T_1 为C6环烃, 以及 R_1 为C1-C8脂肪族烃基。

[0039] 于根据本发明的部分实施方案中, 该组成物用于提高该活性成分的生体可用率。

[0040] 本发明也关于一种提高一活性成分的生体可用率的方法, 其包含使该活性成分并入一油性介质系统中, 其中:

[0041] (1)该油性介质系统含有植物油及/或植物油的成分, 但不含以下物质: 磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬脂酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯; 以及

[0042] (2)该活性成分选自由以下所组成的群组: 式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合,

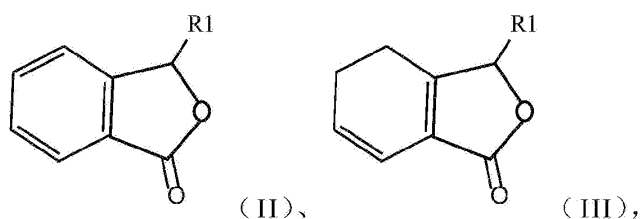


[0043] 其中, T_1 为C6环烃, 以及 R_1 为C1-C8脂肪族烃基。

[0044] 于根据本发明的组成物或方法中, 所涉植物油较佳选自由以下所组成的群组: 芝麻油、紫苏油、印加果油、玄米油、大豆油、沙棘果油、椰子油、玉米油、棕榈油、花生油、葡萄籽油、红花籽油、南瓜籽油、杏仁油、腰果油、榛果油、核桃仁油、黑豆油、松子油、黑种草油、月见草油、芝麻叶精油、芥花油、棉籽油、橄榄油、菜籽油、葵花油、山核桃油、开心果油、蓖麻油、及前述的组合; 更佳选自由以下所组成的群组: 芝麻油、大豆油、芥花油、及前述的组合。

[0045] 于根据本发明组成物或方法的部分实施方案中, 油性介质系统由该植物油所组成。

[0046] 于根据本发明的组成物或方法中, 所涉活性成分较佳选自由以下所组成的群组: 式(II)化合物、其医药上可接受的盐、式(III)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合,



[0047] 其中, R_1 为C1-C6脂肪族烃基(较佳为C4烷基或烯基)。

[0048] 于根据本发明的组成物或方法中, 所涉式(I)化合物及其医药上可接受的盐可以为商业上购得者、经由本发明领域所知的合成方法制备而得者、或自天然萃取物分离而得者, 但不以此为限。

[0049] 于根据本发明的组成物或方法中, 活性成分在油性介质系统中的浓度以将两者混合后不产生分层为原则。较佳地, 以每克该油性介质系统的重量计, 该活性

成分的浓度可为50毫克/克至500毫克/克；以每毫升该油性介质系统的体积计，该活性成分的浓度可为0.001毫克/毫升至1,500毫克/毫升。在本发明的部分实施方案中，该油性介质系统与该活性成分的体积比可为1:15至30:1，例如1:13、1:11.5、1:10、1:8、1:6、1:4、1:2、1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、8:1、10:1、13:1、15:1、17:1、20:1、25:1。于本发明的部分实施方案中，当所涉油性介质系统含有芝麻油时，以每毫升该油性介质系统的体积计，式(I)化合物的浓度达到920毫克/毫升时仍可稳定存在于油性介质系统中。

[0050] 本发明组成物可通过简单混合油性介质系统与活性成分的方式进行制备。在活性成分可溶于油性介质系统的情况中，可直接将活性成分添加至油性介质系统当中，使其溶解于其中；而在活性成分不溶于油性介质系统的情况中，则可在将活性成分添加至油性介质系统中后施以一物理力(如振荡、磁石搅拌)，以提供活性成分以微米微滴或纳米微滴的形式存在于其中的稳定悬浮液。

[0051] 根据本发明所提供的组成物可以是一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组成物。此外，于根据本发明的方法中，活性成分与油性介质系统的组合可以呈一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组成物的形式。于本发明的部分实施方案中，活性成分与油性介质系统的组合以一口服形式的医药组成物提供。

[0052] 根据本发明所提供的医药组成物可用于全身性投药或局部性投药，且可通过各式药物传递系统(drug delivery system, DDS)进行传递。举例言之，但不以此为限，医药组成物可藉由口服药物传递系统(oral drug delivery system)、经黏膜药物传递系统(transmucosal drug delivery system)、经皮药物传递系统(transdermal drug delivery system)、及/或注射药物传递系统(injectable drug delivery system)进行传递。此外，该医药组成物可以如下一或多种投药方式投予至有需要的个体：口服、舌下、皮下注射、肌肉注射、腹腔注射、及静脉注射(包含点滴输注及快速注射)、鼻腔投予、经皮投予、皮下植入、组织间植入。

[0053] 视使用形式及用途而定，可选用任何医药上可接受的赋形剂来提供该医药组成物，只要该赋形剂不会不利地影响本发明的式(I)化合物及/或其医药上可接受的盐的所欲效益以及其于油性介质系统中的即可。该医药上可接受的赋形剂可

以为本领域已知可采用者，包括，但不限于：稀释剂、介面活性剂、助流剂、崩散剂、黏合剂、缓冲剂、着色剂、矫味剂、抗氧化剂、防腐剂、薄膜形成剂等。

[0054] 根据本发明所提供的食品组成物可以是保健食品、膳食补充品、机能性食品、营养补充食品或特殊营养食品。举例言之，但不以此为限，该食品组成物可以油类制品的形式提供。例如：以内含油滴的胶囊形式提供。

[0055] 视使用形式及用途而定，根据本发明所提供的食品添加剂组成物可呈任何合宜的形式，并无特殊限制，只要是便于食品制造过程中添加的形式即可。举例言之，但不以此为限，该食品添加剂组成物可以油性食用添加剂的形式提供。例如：以食用精油的形式提供。

[0056] 现以下列实施例进一步例示说明本发明。其中这些实施例仅提供作为说明，而非用以限制本发明的保护范围。本发明保护范围如权利要求书所示。

[0057] 实施例

[0058] 于以下实施例中，所使用的物料及器材如下：

[0059] 1.黑芝麻油：购自义美食品公司，品名：义美100%纯黑麻油。

[0060] 2.白芝麻油：购自Seitenbacher公司，品名：Premium Sesame oil。

[0061] 3.芥花油：购自TTET UNION公司。

[0062] 4.大豆油：购自TTET UNION公司。

[0063] 5.2,6-二丁基对甲酚，又称2,6-二丁基羟基甲苯(Butylated hydroxytoluene，简称BHT)：购自Alfa Aesar公司。

[0064] 6.亚丁基苯酐(n-butylidenephthalide，BP)：购自Penta Manufacturing公司；纯度 $\geq 97\%$ 。

[0065] 7.Z-亚丁基苯酐((Z)-n-butylidenephthalide，Z-BP)：由长弘生物科技公司提供；批号:F212TR12001；纯度99.8%。

[0066] 8.藁本内酯(ligustilide，LG)：购自Sigma-Aldrich；纯度 $\geq 96\%$ 。

[0067] 9.丁基苯酐(butylphthalide)：购自Toronto Research Chemicals公司；纯度 $\geq 98\%$ 。

- [0068] 10.1XM细胞(一种人类胶质母细胞瘤细胞株): 获得自花莲慈济医院(网址: hlm.tzuchi.com.tw/)韩鸿志教授研究团队。
- [0069] 11.Mia-PaCa2细胞(一种人类胰脏癌细胞株): 获得自生物资源保存及研究中心(Bioresource Collection and Research Center, BCRC; 网址: www.bcrc.firdi.org.tw/); 寄存编号: BCRC 60139。
- [0070] 12.1XM细胞培养液: 添加有10%胎牛血清(FBS; 购自Hyclone)、及1%青霉素和链霉素(P/S; 购自Hyclone)的DMEM培养液(购自Hyclone)。
- [0071] 13.Mia-PaCa2细胞培养液: 添加有10%胎牛血清(FBS; 购自Hyclone)、2.5%马血清(horse serum; 购自Gibco)、及1%青霉素和链霉素(P/S; 购自Hyclone)的DMEM/High Glucose培养液(购自Hyclone)。
- [0072] 14.MTT分析套组: 购自Sigma-Aldrich。
- [0073] 15.ELISA reader(免疫酵素分析仪): 购自PerkinElmer(USA)。
- [0074] 实施例1: 本发明组成物的制备
- [0075] 1-1.组成物的制备
- [0076] 于玻璃瓶中, 将各成分以表1所示的用量比例混合, 并以磁石快速搅拌20分钟以形成均匀液体, 分别制得组成物1至4。取出磁石后, 将玻璃瓶紧闭, 再观察其外观并拍照, 结果示于图1。

[0077] 表1: 组成物1至4的组成体积百分比

组成物	1	2	3	4
BP	50	83.3	50	83.3
黑芝麻油	50	16.7		
白芝麻油			50	16.7

- [0078] 如图1所示, 组成物1至4皆未出现分层, 显示BP在芝麻油中的溶解度良好。此外, 将组成物3进一步制成软胶囊, 该软胶囊的照片如图2所示。
- [0079] 1-2.成分分析
- [0080] 在不同时间对实施例1-1所提供的软胶囊的内容物进行成分分析, 此包括分别在软胶囊制成之时以及在室温下置于无阳光照射的环境中储存一年之后, 将内容物以乙腈(ACN)配置成浓度为1毫克/毫升的样品, 并以表2所示的条件通过高效能液向层析法(HPLC)分析该样品中的成分, 结果示于图3A及图3B, 图3C则为

ACN的HPLC分析图谱。由图3A至图3C可知，该软胶囊即使于室温下保存长达一年，其内容物仍含有Z-BP和E-BP，此说明活性成分可长时间稳定于本发明油性介质系统中。

[0081] 表2

分析设备	Waters series LC system
管柱	Sharpsil-U C18 (s-5微米，100Å，4.6 x 250毫米) 附加保护管柱C18 (5微米，4.6 x 20毫米)
移动相条件	0.1% H ₃ PO ₄ ACN/H ₂ O (30/70)： 0.1% H ₃ PO ₄ ACN = 100： 0 梯度到 5： 95
温度	45℃
流速	1毫升 / 分钟
UV检测波长	261 纳米 (nm)

[0082] 实施例2：本发明组成物的稳定性

[0083] 2-1.组成物的制备

[0084] 于玻璃瓶中，将各成分以表3所示的用量比例混合，并以磁石快速搅拌20分钟以形成均匀液体，分别制得组成物5至11。取出磁石后，将玻璃瓶紧闭。

[0085] 表3：组成物5至11的组成重量百分比

组成物	5	6	7	8	9	10	11	12
图式标示	F10319	F10700	F10600	F10900	F10300	F1900	F1300	D2018-2
BP	8	12	15	30	8	30	8	8
黑芝麻油	80	87	85	70	92			
芥花油	11.9					70	92	
大豆油								92
BHT	0.1							

[0086] 2-2.稳定性测试

[0087] 将实施例2-1所提供的组成物5至10于室温下置于无阳光照射的环境中，历时二年后观察其外观并拍摄，结果示于图4。

[0088] 由图4可知，组成物5至10于室温下保存长达二年仍不会发生分层。前述结果再次显示，本发明组成物即使经长时间储存，所含的活性成分仍可稳定地存在于油性介质统中，具有相当优异的稳定性。

[0089] 实施例3：生体可用率试验(实验动物)

[0090] 3-1.血清样品的制备

- [0091] 使大鼠空腹12小时后，对大鼠的尾静脉抽取0.3毫升的血液，注入含Potassium (K₂)EDTA的采血管中，接着将采血管离心10分钟(2000xg, 2~8℃)，取上清液(即，空白组血清)冻存于-70℃，待后续分析。
- [0092] 其后，将大鼠随机分成五组(每组2只)，并分别以如下条件进行处理：
- [0093] 1.F10900组：以口服喂食的方式，并以300毫克(BP)/公斤体重的授予剂量，对大鼠授予实施例2-1所提供的组成物8。
- [0094] 2.F10300组：比照F10900组进行，但将组成物8替换为组成物9。
- [0095] 3.F1900组：比照F10900组进行，但将组成物8替换为组成物10。
- [0096] 4.F1300组：比照F10900组进行，但将组成物8替换为组成物11。
- [0097] 5.D2018-2组：比照F10900组进行，但将组成物8替换为组成物12。
- [0098] 分别于喂食授予后的第1、2、4、6、8、24小时，对各组大鼠的尾静脉抽取0.3毫升的血液并注入含乙二胺四乙酸二钾(EDTA K₂)的采血管中，并插在冰上。其后，将各采血管离心10分钟(2000xg, 2~8℃)，取上清液，所得分别为F10300组血清、F1900组血清、F1300组血清、F1900组血清、与D2018-2组血清。将各组血清冻存于-70℃，待后续分析。
- [0099] 3-2.分析标准品的制备
- [0100] 将50微升(μ L)的标准品溶液(含有BP浓度范围为0至0.5毫克/毫升)与150微升的实施例3-1所提供的空白组血清混合后，以超音波震荡3分钟，接着加入400微升乙腈(ACN)，混合后再以超音波震荡3分钟，接着，将该混合液置于0℃以下的环境中10分钟后取出，回到室温5分钟后，再以0.2微米(μ m)PTFE滤膜进行过滤，所得滤液即为分析标准品。
- [0101] 3-3.分析样品的制备
- [0102] 将150微升的实施例3-1所提供的F10300组血清、F1900组血清、F1300组血清、F1900组血清、或D2018-2组血清与450微升ACN混合，其后以超音波震荡混合液3分钟，接着，将混合液置于0℃以下的环境中10分钟后取出，回到室温5分钟后，再以0.2微米PTFE滤膜进行过滤，所得滤液即为分析样品。
- [0103] 3-4.HPLC与药物动力学分析

[0104] 以表4所示的条件对实施例3-2及3-3所提供的分析标准品与分析样品进行HPLC分析，将各采样时间点的血清样品中的BP定量，结果示于图5。

[0105] 表4

分析设备	Waters series LC system
管柱	Sharpsil-U C18 (s-5微米，100Å，4.6 x 250毫米) 附加保护管柱C18 (5微米，4.6 x 20毫米)
移动相条件	0.1% H ₃ PO ₄ ACN/H ₂ O (30/70)；0.1% H ₃ PO ₄ ACN = 100：0 梯度至 9：91
温度	40℃
流速	1毫升 / 分钟
UV检测波长	261 纳米 (nm)

[0106] 将所得各采样时间点的BP浓度值输入Pk solver软件后，以NCA IV Bolus模式与linear log Trapezoidal方法计算获得Tmax、Cmax、AUC、T_{1/2}等参数、以及生体可用率(BA)，结果示于表5。

[0107] 表5

组别	Tmax (小时)	Cmax (纳克 / 毫升)	AUC (纳克×时间 / 毫升)	T _{1/2}	BA(%)
F10900	3	1506	8368	6.9	13.5
F10300	3	2902	19645	4.4	31.7
F1900	2	1891	5270	7.9	9
F1300	0.5	950	8895	6	14.3
D2018-2	1	1386	2768	6.3	4.5

[0108] 由图5及表5可知，在F10300组、F1300组、F10900组、与F1900组大鼠口服本发明组成物后24小时内所取的血清中皆可检测到BP，且F10300组、F1300组、F10900组、F1900组、与D2018-2组血清中的BP含量皆在大鼠口服本发明组成物后的3小时内达到高峰；此外，F10300组的AUC与BA高于F10900组，且F1300组的AUC高于F1900组。前述结果显示，将本发明组成物用于大鼠的口服吸收速率与吸收程度皆相当优异，且本发明组成物中所含活性成分的生体可用率随着植物油在组成物中的比例增加而提高。

[0109] 本实施例的结果显示，将本发明式(I)化合物并入本发明油性介质系统中再投予至动物个体，可提高式(I)化合物的生物可利用率。

- [0110] 实施例4：生体可用率试验(人体)
- [0111] 4-1.血清样品的制备
- [0112] 1.空白组：在受试者(体重：70公斤)口服实施例1-1所提供的软胶囊之前，先抽取5毫升的血液，注入含EDTA K2的采血管中，接着将采血管离心10分钟(1900xg, 2~8℃)，取上清液(即，空白组血清)冻存于-70℃，待后续分析。
- [0113] 2.“实验(芝麻油)”组：在该受试者口服实施例1-1所提供的软胶囊(使用剂量：以BP的重量计，4.285毫克/公斤体重)后的第1、2、4、8、24小时，各抽取5毫升的血液，注入含EDTA K2的采血管中，并插在冰上。接着，将各采血管离心10分钟(1900xg, 2~8℃)，取上清液(即，血清)冻存于-70℃，待后续分析。
- [0114] 4-2.分析标准品的制备
- [0115] 比照实施例3-2进行，但将实施例3-1所提供的空白组血清替换为实施例4-1所提供的空白组血清，以提供分析标准品。
- [0116] 4-3.分析样品的制备
- [0117] 比照实施例3-3进行，但将F10300组血清/F1900组血清/F1300组血清/F1900组血清替换为实施例4-1所提供的“实验(芝麻油)”组血清，以提供分析样品。
- [0118] 4-4.HPLC分析
- [0119] 比照实施例3-4的方法与条件，对实施例4-2及4-3所提供的分析标准品与分析样品进行分析，将各采样时间点的血清样品中的BP定量，结果示于图6。
- [0120] 由图6可知，在受试者口服本发明组成物后24小时内的血清中皆可检测到BP，且血清中BP含量在口服本发明组成物约2小时后达到高峰。前述结果显示，将本发明组成物用于人类口服的吸收速率与吸收程度也相当优异。
- [0121] 实施例5：癌细胞毒杀试验I
- [0122] 本实施例使用MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化物)分析法(MTT assay)来研究授予本发明组成物后所得血清在毒杀癌细胞的效益。
- [0123] 本实施例的细胞培养皆于95%相对湿度、5% CO₂、37℃的环境下进行。
- [0124] 5-1.细胞培养

- [0125] 将脑癌细胞株1XM(或胰脏癌细胞株Mia-PaCa2)分组, 分别以如下培养液培养于6孔的细胞培养盘中, 历时48小时:
- [0126] 1.空白组: 1XM细胞培养液(或Mia-PaCa2细胞培养液)。
- [0127] 2. “BP(50)” 组或 “BP(100)” 组: 添加有BP(50或100微克/毫升)的1XM细胞培养液(或Mia-PaCa2细胞培养液)。
- [0128] 3. “空白血清(低)” 组、“空白血清(中)” 组、“空白血清(高)” 组: 添加有实施例4-1所提供的空白组血清(于培养液中的含量为6.25体积%、12.5体积%、或25体积%)的1XM细胞培养液(或Mia-PaCa2细胞培养液)。
- [0129] 4. “实验血清(低)” 组、“实验血清(中)” 组、“实验血清(高)” 组: 添加有实施例4-1口服软胶囊后的第1、2、4、8或24小时所取的实验组血清(于培养液中的含量为6.25体积%、12.5体积%、或25体积%)的1XM细胞培养液(或Mia-PaCa2细胞培养液)。
- [0130] 5-2.MTT分析法
- [0131] 移除细胞培养盘各孔中的培养液并加入MTT试剂(使MTT于各孔培养液中的最终浓度为0.5毫克/毫升), 再将细胞培养盘置于37℃、5% CO₂的培养箱内作用2至4小时, 以形成甲臌(formazan)紫色针状结晶。其后, 将溶液吸出, 并于各孔加入500微升二甲基亚砜(DMSO)。以振荡器摇晃5至10分钟, 使甲臌紫色针状结晶完全溶解后, 利用ELISA reader测量570或595纳米波长下的吸光值, 据此计算细胞的存活率, 并以空白组作为基准(即, 将空白组的存活率设定为100%)而计算其余各组的相对存活率, 结果示于图7及图8。其中, 口服软胶囊后第2小时所取的实验组血清的数据示于图7, 口服软胶囊后第1、4、8或24小时所取的实验组血清的数据则示于图8。
- [0132] 由图7及图8可知, 相较于空白组, “实验血清(低)” 组、“实验血清(中)” 组、“实验血清(高)” 组的癌细胞存活率皆较低, 与 “BP(50)” 组或 “BP(100)” 组相当; 另一方面, 癌细胞存活率降低程度为 “实验血清(低)” 组< “实验血清(中)” 组< “实验血清(高)” 组。
- [0133] 上述结果显示, 在口服含本发明组成物的软胶囊后所取得的血清具有毒杀脑癌细胞与胰脏癌细胞的效果, 前述效果会随着血清中活性成分浓度增加而提升,

且与直接以活性成分对癌细胞进行处理者相当。此也说明，本发明组成物所含的活性成分具有优异的生体可用率。

- [0134] 实施例6：癌细胞毒杀试验II
- [0135] 本实施例的细胞培养皆于95%相对湿度、5% CO₂、37℃的环境下进行。
- [0136] 6-1.细胞培养
- [0137] 将胰脏癌细胞株Mia-PaCa2分组，分别以如下培养液培养于96孔的细胞培养盘中，历时24小时：
- [0138] 1. “Z-BP”组：添加有Z-BP的Mia-PaCa2细胞培养液。
- [0139] 2. “Z-BP+芝麻油”组：“Z-BP+芥花油”组、“Z-BP+大豆油”组：添加有Z-BP与芝麻油、芥花油、或大豆油等比例配置的混合物的Mia-PaCa2细胞培养液。
- [0140] 3. “LG+芝麻油”组：“LG+芥花油”组、“LG+大豆油”组：添加有LG与芝麻油、芥花油、或大豆油等比例配置的混合物的Mia-PaCa2细胞培养液。
- [0141] 6-2.MTT分析
- [0142] 比照实施例5-2的方式进行MTT分析，并根据所测得的存活率计算上述不同处理方式对胰脏癌细胞达到50%致死率的浓度值(IC₅₀)。结果示于表6。
- [0143] 表6

组别	IC ₅₀ （微克 / 毫升）
Z-BP	63.84
Z-BP+芝麻油	17.35
Z-BP+芥花油	23.25
Z-BP+大豆油	40.66
LG	44.09
LG+芝麻油	20.69
LG+芥花油	25.98
LG+大豆油	43.69

[0144] 表6的结果显示，将本发明式(I)化合物并入本发明油性介质统中，提高了式(I)化合物的毒杀癌细胞效益。

[0145] 由上述实施例的结果可知，本发明活性成分(即，式(I)化合物及/或其医药上可接受的盐)在本发明油性介质系统中的溶解度良好，且可长时间稳定地存在于油性介质系统中。此外，当将本发明活性成分以并入油性介质系统中的形式投用，可提高该活性成分的生体可用率，从而得以避免增量使用才可提供所欲治疗效益的问题，减缓或免除不必要的副作用。

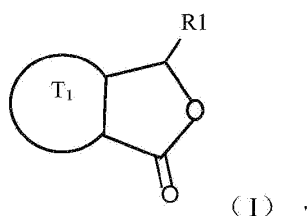
权利要求书

[权利要求 1]

一种组成物，其特征在于，其包含：

(1)一油性介质系统，其含有植物油及/或植物油的成分，但不含以下物质：磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬脂酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯；以及

(2)一活性成分，其选自以下所组成的群组：式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



其中，

T₁为C₆环烃；以及

R₁为C₁-C₈脂肪族烃基。

[权利要求 2]

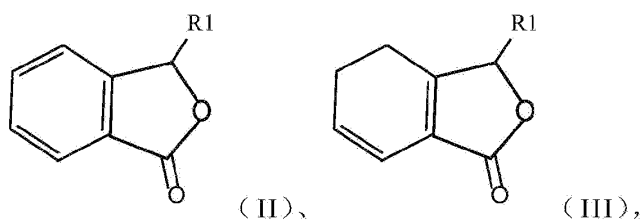
如权利要求1的组成物，其特征在于，该植物油选自以下所组成的群组：芝麻油、紫苏油、印加果油、玄米油、大豆油、沙棘果油、椰子油、玉米油、棕榈油、花生油、葡萄籽油、红花籽油、南瓜籽油、杏仁油、腰果油、榛果油、核桃仁油、黑豆油、松子油、黑种草油、月见草油、芝麻叶精油、芥花油、棉籽油、橄榄油、菜籽油、葵花油、山核桃油、开心果油、蓖麻油、及前述的组合。

[权利要求 3]

如权利要求1的组成物，其特征在于，该植物油选自以下所组成的群组：芝麻油、大豆油、芥花油、及前述的组合。

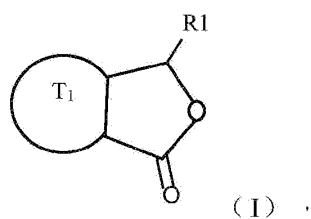
[权利要求 4]

如权利要求1的组成物，其特征在于，该活性成分选自以下所组成的群组：式(II)化合物、其医药上可接受的盐、式(III)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



其中， R_1 为C1-C6脂肪族烃基。

- [权利要求 5] 如权利要求4的组成物，其特征在于， R_1 为C4烷基或烯基。
- [权利要求 6] 如权利要求1至5中任一项的组成物，其特征在于，以每毫升该油性介质系统的体积计，该活性成分的浓度为0.001毫克/毫升至1,500毫克/毫升。
- [权利要求 7] 权利要求1至5中任一项的组成物，其特征在于，该油性介质系统与该活性成分的体积比为1:15至30:1。
- [权利要求 8] 如权利要求1至5中任一项的组成物，其特征在于，其用于提高该活性成分的生体可用率。
- [权利要求 9] 如权利要求8的组成物，其特征在于，其是一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组成物。
- [权利要求 10] 如权利要求9的组成物，其特征在于，其是一呈口服或舌下给药形式的医药组成物。
- [权利要求 11] 如权利要求9的组成物，其特征在于，其是一食品组成物，其是保健食品、膳食补充品、机能性食品、营养补充食品或特殊营养食品。
- [权利要求 12] 一种提高一活性成分的生体可用率的方法，其特征在于，其包含使该活性成分并入一油性介质系统中，其中：
- (1)该油性介质系统含有植物油及/或植物油的成分，但不含以下物质：磷酸盐缓冲液、聚乙二醇、二甲亚砜、乙醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯、乙酸乙酯、12-羟基硬酯酸羟乙酯、及生育酚聚乙二醇琥珀酸酯；以及
- (2)该活性成分选自由以下所组成的群组：式(I)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



其中，

T_1 为C6环烃；以及

R_1 为C1-C8脂肪族烃基。

[权利要求 13]

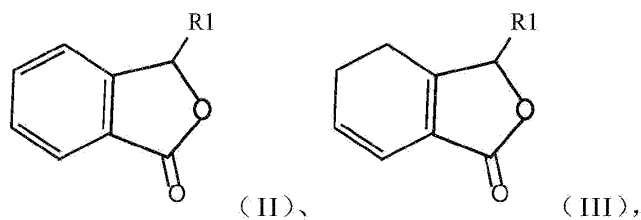
如权利要求12的方法，其特征在于，该植物油选自由以下所组成的群组：芝麻油、紫苏油、印加果油、玄米油、大豆油、沙棘果油、椰子油、玉米油、棕榈油、花生油、葡萄籽油、红花籽油、南瓜籽油、杏仁油、腰果油、榛果油、核桃仁油、黑豆油、松子油、黑种草油、月见草油、芝麻叶精油、芥花油、棉籽油、橄榄油、菜籽油、葵花油、山核桃油、开心果油、蓖麻油、及前述的组合。

[权利要求 14]

如权利要求12的方法，其特征在于，植物油选自由以下所组成的群组：芝麻油、大豆油、芥花油、及前述的组合。

[权利要求 15]

如权利要求12的方法，其特征在于，该活性成分选自由以下所组成的群组：式(II)化合物、其医药上可接受的盐、式(III)化合物、其医药上可接受的盐、及前述的组合，



其中， R_1 为C1-C6脂肪族烃基。

[权利要求 16]

如权利要求15的方法，其特征在于， R_1 为C4烷基或烯基。

[权利要求 17]

如权利要求12至16中任一项的方法，其特征在于，以每毫升该油性介质系统的体积计，该活性成分的浓度为0.001毫克/毫升至1,500毫克/毫升。

- [权利要求 18] 如权利要求12至16中任一项的方法，其特征在于，该油性介质系统与
该活性成分的体积比为1:15至30:1。
- [权利要求 19] 如权利要求12至16中任一项的方法，其特征在于，该油性介质系统
与该活性成分呈一医药组成物、一食品组成物、或一食品添加剂组
成物的形式。
- [权利要求 20] 如权利要求19的方法，其特征在于，该合并后的油性介质系统与活
性成分呈一医药组成物的形式时，其用于口服或舌下给药。
- [权利要求 21] 如权利要求19的方法，其特征在于，该合并后的油性介质系统与活
性成分呈一食品组成物的形式时，其是保健食品、膳食补充品、机
能性食品、营养补充食品或特殊营养食品。