(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103118666 A
(43)申请公布日 2013.05.22

(21)申请号 201180045655.5

(22)申请日 2011.09.21

(30)优先权数据
BO2010A000567 2010.09.22 IT
BO2010A000638 2010.10.22 IT
BO2011A000012 2011.01.19 IT

(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.03.22

(86)PCT申请的申请数据
PCT/IB2011/054133 2011.09.21

(87)PCT申请的公布数据
WO2012/038898 EN 2012.03.29

(71)申请人 意大利阿尔法韦士曼制药公司
地址 意大利佩斯卡拉

(72)发明人 V·朱塞佩克劳迪奥 M·保拉
B·朱塞佩 G·玛利亚

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 黄革生 林柏楠

(51)Int.Cl.
A61K 9/16(2006.01)
A61K 9/20(2006.01)
A61K 31/44(2006.01)

权利要求书2页 说明书26页

(54)发明名称

含有利福昔明的药物制剂、制备其的方法和治疗肠疾病的方法

(57)摘要

本发明的目标涉及利用肠溶微粒得到的含有利福昔明的肠溶片剂，其特征在于它们在1.5-4.0的pH值抑制利福昔明释放，并且它们在5.0-7.5的pH值允许利福昔明释放；涉及获得它们的方法，以及它们在治疗和预防直接或间接源自炎性肠疾病的疾病中的用途。

CN 103118666 A

1. 片剂形式的药物组合物，其包含：

i) 肠溶微粒，其含有 100-800mg 的量的单独的或与其他晶体、水合物、溶剂合物或无定形形式的利福昔明混合的利福昔明 β，

ii) 药学上可接受的颗粒外赋形剂，和任选的

iii) 形成薄膜的包衣

其中，片剂中所含的颗粒外赋形剂的总量不超过片剂重量的 30%。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中片剂中颗粒外赋形剂的总量占片剂重量的 5.0%-20.0%。

3. 根据权利要求 1 或权利要求 2 所述的药物组合物，其中颗粒外赋形剂包括崩解剂、润滑剂和任选的稀释剂。

4. 根据权利要求 3 所述的药物组合物，其中颗粒外赋形剂包括一种或多种：

- 崩解剂，其选自羧甲基纤维素钠 (carmelose 钠)、交联羧甲基纤维素钠 (croscarmelose 钠)、聚乙烯吡咯烷酮（聚维酮）、交联聚乙烯吡咯烷酮（交聚维酮）、羟乙酸淀粉钠、羧甲基淀粉钠、预胶化淀粉、二氧化硅；

- 润滑剂，其选自硬脂酸镁或硬脂酸钙、硬脂酰富马酸钠、氢化植物油、矿物油、聚乙二醇、十二烷基硫酸钠、甘油酯类、苯甲酸钠；和任选的

- 稀释剂，其选自纤维素、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、高岭土、硫酸钙二水合物、碳酸钙、乳糖、蔗糖、葡萄糖、山梨醇、甘露醇、葡聚糖、木糖葡聚糖。

5. 根据权利要求 1-4 中任何一项所述的药物组合物，其包含着色剂、甜味剂和 / 或抗氧化剂。

6. 根据权利要求 1-5 中任何一项所述的药物组合物，其中崩解剂的量是 3.0 重量 %-8.0 重量 %，润滑剂的量是 0.3 重量 %-2.0 重量 %，并且稀释剂的量是 0.0 重量 %-10.0 重量 %，所述各量是相对于无包衣的片剂的总重量而言的。

7. 根据权利要求 1-6 中任何一项所述的药物组合物，其用于治疗肠道感染和 / 或炎性疾病。

8. 根据权利要求 7 所述应用的药物组合物，其中肠道感染和 / 或炎性疾病选自腹泻综合征、旅行者腹泻、肠道菌群平衡改变引起的腹泻、克罗恩病、肠炎、溃疡性直肠 - 结肠炎、肠易激综合征、小肠细菌过度生长、憩室病、高氨血症、手术前和手术后的抗菌预防、肝性脑病、应力关节病、间质性结肠炎、细菌性腹膜炎、质子泵抑制剂长期使用引起的感染。

9. 根据权利要求 8 所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中用于临床缓解的治疗包括每天施用 800mg-2400mg 之间的量的利福昔明。

10. 根据权利要求 9 所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中临床缓解的治疗期包括 12 周的治疗期。

11. 根据权利要求 9 或 10 中任何一项所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中患者是具有高于 5mg/ml 反应活性蛋白 C 值的患者。

12. 根据权利要求 9 或 10 中任何一项所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中患者是具有大约 5mg/ml-10mg/ml 反应活性蛋白 C 值的患者。

13. 根据权利要求 9 或 10 中任何一项所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中患者是最近诊断有所述疾病的患者。

14. 根据权利要求 9 或 10 中任何一项所述应用的药物组合物，其用于治疗克罗恩病，其中患者是具有位于回肠和直肠的所述疾病的患者。

15. 根据权利要求 9-14 中任何一项所述应用的药物组合物，其用作单一疗法。

含有利福昔明的药物制剂、制备其的方法和治疗肠疾病的方法

[0001] 发明目标

[0002] 本发明的目标涉及利用肠溶 (gastroresistant) 微粒得到的含有利福昔明的肠溶片剂，其特征在于它们在 1.5-4.0 的 pH 值抑制利福昔明释放，并且它们在 5.0-7.5 的 pH 值允许利福昔明释放；涉及获得它们的方法，以及它们在治疗和预防直接或间接源自炎性肠疾病的疾病中的用途。

[0003] 发明背景

[0004] 在消化器官的病患中，具有感染性病因学和 / 或炎性肠病病因学的病那些是常见的。它们包括肠道感染、肠易激综合征和炎性肠疾病。

[0005] 术语“肠道感染”包括例如腹泻综合征、旅行者腹泻、肠道菌群平衡改变引起的腹泻、肠炎。术语炎性肠疾病也指例如克罗恩病和溃疡性直肠 - 结肠炎。其他肠道病患包括肠易激综合征 (IBS)(也称作“应激性肠疾病”)、小肠中细菌的过度生长 (也称作“小肠细菌过度生长”(SIBO)) 和憩室综合征。

[0006] 上述肠道病患的病因学可能 (至少部分) 归因于细菌致病体或肠道菌群改变。还用利福昔明治疗肝性脑病，因为该病患本身和其并发症可由肠道微生物群产生氨而引起。

[0007] 对于炎性肠疾病，医学治疗的目标是利用药物例如抗生素、甾体、5- 氨基水杨酸盐 (5-ASA)、免疫抑制剂、特定的化疗药和所谓的生物药诸如英夫利昔单抗、依那西普、阿达木单抗、anakirna 减轻炎症状况。

[0008] 就此而言，广泛使用抗生素，以减轻肠腔内的细菌负荷，并由此减轻与其相关的炎症状况，随后致使与该病患状况相关的疾病复合症状 (腹泻、肠痛、鼓胀、里急后重、脓肿、瘘等) 缓解。

[0009] 所用的药物通常伴随有严重的副作用和 / 或副反应，还引起治疗中止。因此，亟需新的可用药物，其对于治疗所述病患是有效的，并具有保证它们可长期使用的合适的安全性质 (profile)。

[0010] 利福昔明是具有抗革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌活性的抗生素，已报道利福昔明不被吸收，如 Descombe J. 等人在 Int. J. Clin. Pharmacol. Res.，14(2)，51-56(1994) 中所述的，并且利福昔明仅在胃肠道内局部起作用。由于其抗菌作用和局部活性，利福昔明在急性期和慢性期的感染和炎性肠疾病的治疗中起相关作用。

[0011] 利福昔明以结晶和无定形形式存在，这描述于例如美国专利号 7,045,620 和具有公开号 US20080262024 和 US20090130201 的美国专利申请中，将其全部引入文中作为参考。利福昔明的不同形式与吸收到血液中的不同水平相关。参见美国专利申请号 US200801332530，也将其全部引入文中作为参考。

[0012] 目前，利福昔明被认批准用于治疗病因学部分或全部归咎于由革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌导致的急性和慢性肠疾病的病变，例如腹泻综合征、旅行者腹泻、肠内菌丛改变引起的腹泻如夏季腹泻、旅行者腹泻、小肠结肠炎。并且，利福昔明还用于在胃肠道的外科手术中术前和术后预防感染性并发症，用作在治疗高氨血症中作为辅助剂，用于降低肝性

脑病急性事件的风险。

[0013] 利福昔明还可用于关节疲劳综合征、间质性结肠炎 (interstitial colitis)、细菌性腹膜炎和质子泵抑制剂长期使用引起的感染。

[0014] 对于上述应用而言，目前市售的利福昔明的极少吸收是另一个优点，因为其降低了不期望效应例如耐抗生素菌株的选择和可能的药理学交互作用的发生。

[0015] 目前，利福昔明以含有 100mg-550mg 剂量的片剂或胶囊剂形式销售或者以用于儿科使用的制剂销售或者以用于治疗局部感染的软膏剂销售。

[0016] 临床研究已表明利福昔明在治疗具有微生物丛改变和炎性肠疾病的病患例如肠易激综合征 (IBS)、小肠细菌生长过度 (SIBO) 和憩室病、克罗恩病和隐窝炎中的功效。

[0017] 根据 Pimentel M. 在 Expert Opin. Investig. Drugs2009 ;18(3),349-358 中和 Prantera C. 等人在 Aliment. Pharmacol. 23,1117-1125,2006 中所报道的，用不同治疗方案，将利福昔明以最多 1200mg/ 天的剂量施用最长 4 周的时间，引起 IBS 和 SIBO 症状的显著改善。

[0018] 在肠道炎性疾病中，特别相关的是克罗恩病，其是可能涉及整个消化道的病患，其中末端回肠和结肠是最相关的区域。炎症性过程通常是不连续的。该疾病的特征在于长期且可变的病程，全身性和肛周的并发症，以及甚至外科和内科治疗后，疾病的复发趋向性。

[0019] 还对于所述病患，例如 Shafran I. 等人在 Am. J. Gastroenterol.，2003，98(Suppl)，S250 和 Current Medical Research Opinion，2005，21(8)，1165-6 中报道使用利福昔明，其报道将市售的含有 200mg 利福昔明的片剂用于治疗患有克罗恩病的患者，观察到诱导疾病缓解 (remission) 的临床疗效。Rizzello F. 等人 Gut，2000，47，Suppl. 3，A12 报道将利福昔明的 200mg 片剂用于预防复发。

[0020] Latella 等人在 Int. J. Colorectal Dis.，2003，18，55-62 中报道将市售利福昔明片剂用于改善患有非并发憩室病患者的症状的功效。

[0021] Bass 等人在 New Eng. J. Med.，2010，362，1071-1081 中报道利福昔明在治疗肝性脑病中的疗效。

[0022] 为了改善利福昔明在治疗炎性肠疾病中的疗效，如 IT1362820 中所述，最近已推荐具有小于 300 微米大小且被肠溶膜包被的微粒 (microgranules) 形式的药物组合物。

[0023] 这些微粒满足了仅在肠道释放抗生素的需求，并且由于其大的表面积和肠溶包衣与在粘膜上生物粘附的聚合物的组合物，增加了活性成分与肠道粘膜的接触。

[0024] 在国际申请 WO2006/094737 和具有公开号 US20090011020 的美国专利申请中描述了含有在肠溶微粒中的利福昔明的药物组合物的制剂，其优选以用于口服给药的水溶液使用，将所述两个专利都全部引入文中作为参考。WO2006/094737 中还报道所述制剂可用于治疗炎性肠疾病。

[0025] Prantera C 等人在 Aliment. Pharmacol. Ther.，2006，23，1117-1125 中描述用根据 WO2006/094737 制备的肠溶微粒中的利福昔明治疗克罗恩病得到的结果，对于水性混悬剂，其中用 800mg 剂量，一天两次，治疗 12 周，使 52% 的患者得到临床缓解。在具有基线升高的 C- 反应蛋白值的患者亚组中，临床缓解率达到 63%。

[0026] 与 Shafran I. 等人，Am. J. Gastroenterol.，2003，98(Suppl)，S250 和 Current Medical Research&Opinion2005，21(8)，1165-6 报道的相比，将微粒中的利福昔明用于混

悬剂得到更好的和出乎意料的结果，其中利用 200mg 利福昔明片剂，一天三次，治疗 12 周后，报告 52% 的病例的疾病得到缓解。为了得到更高的疗效，治疗的平均持续时间必须延长到至少 16 周。

[0027] 当将用市售片剂治疗患者得到的结果与用水性混悬剂的肠溶微粒治疗患者得到的结果进行比较时，还必须注意的是 Shafran，Am. J. Gastroenterol.，2003，98(Suppl)，S250 和 Current Medical Research and Opinion2005，21(8)，1165-6 报道的临床研究中，27.6% 的患者还将皮质类固醇作为伴随治疗，而 Prantera，Aliment. Pharmacol. Ther.，2006，23，1117-1125 进行的研究中排除了皮质类固醇。

[0028] Shafran 等人，Dig. Dis. Sci.，2010，55(4)，1079-84 还报道，一天三次在 68 个患有克罗恩病的患者中使用 200mg 利福昔明片剂的结果，所述患者维持各种伴随治疗，包括皮质类固醇、除利福昔明之外的其他抗生素、所谓的生物制品、免疫调节剂和抗腹泻物质，持续 0.4-134.9 周（平均持续时间值 16.6 周）的治疗时间。所述研究报道在 65% 的患者中实现疾病的临床缓解。

[0029] 尽管 Shafran 描述的上述治疗是相当不同的，但是可以推断的是 Prantera，Aliment. Pharmacol. Ther.，2006，23，1117-1125 报道的结果预示了疗效，因为在更短的治疗时间内实现临床缓解，用更低频次的日给药且未用使用皮质类固醇、其他抗生素和 / 或生物制品的伴随治疗。

[0030] WO2006/094737 描述利福昔明肠溶微粒的制备，并公开混悬剂、片剂和胶囊剂形式的组合物的制备。并且，其描述将水性混悬剂的微粒制剂以至多 1600mg/ 天的剂量用于患克罗恩病的患者，但未报道更高剂量的疗效和安全性，以及治疗结束后，疾病缓解的持续时间。

[0031] 此外，WO2006/094737 描述利用微粒的可能药物形式，如片剂、胶囊剂、袋装剂 (packets)，并提到微粒可包含利福昔明的 α、β、γ、δ 和 ε 多晶型物。

[0032] 利福昔明还可以以水合物和 / 或溶剂合物形式存在。WO2008/029208（还以美国专利申请公开号 20100010028 公开）中描述利福昔明的溶剂合物，其中利福昔明形式通过溶剂合物稳定。

[0033] 本发明的目标是提供更有效的药物形式，其用于治疗对利福昔明治疗敏感的炎性疾病。

[0034] 发明简述

[0035] 已出乎意料地发现通过在可能的药物形式中选择使用片剂，并且在利福昔明的所有的多晶型形式中选择以使用水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 多晶型物，如表 1 中所示，得到用于治疗炎性疾病的更有效的药物形式。

[0036] 该结果是出乎意料和令人吃惊的，因为在所有的药物形式中，片剂是其中活性成分不太能及时迅速可用的，并且在所有已知的利福昔明的多晶型物中，水合物或溶剂合物形式的利福昔明利福昔明 β 多晶型物的是生物利用较差和较不易溶的。所述两种因素的联合使本发明的制剂在治疗炎性疾病并尤其是克罗恩病中的疗效提高是令人吃惊和出乎意料的。

[0037] 优选如此制备本发明的片剂，以使在整个生产过程及其贮存期间保持水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β。并且，得到的片剂应该保持微粒的胃保护

(gastroprotection)；且仅含有不同量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 或者含有不同量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 以及利福昔明的其他多晶型物或无定形形式，还具有比 WO2006/094737A1 中描述的那些剂量即 1600mg/ 天相当或更高的剂量；具有可接受的大小；具有适当的硬度，以在生产和包装过程中易于处理，且无破裂或剥落的危险；具有足够快速的崩解时间，以允许活性成分在肠道中的释放；并具有与 WO2006/094737A1 中描述的肠溶颗粒的水性混悬剂得到的活性成分溶出曲线相当的活性成分溶出曲线。此外，本发明的片剂应随时间推移是稳定的，以使得方便地施用，并且对于在肠道感染和炎性疾病中使用而言是患者可接受的。

[0038] 并且，尽管根据例如 WO2005/044823、WO2006/094662、US2009082558、WO2008/035108、WO2008/155728、WO2009/10873001、美国专利号 7,045,620、WO2008/029208（还作为美国专利申请公开号 20100010028 公开和在 Crist.Eng.Comm.，2008,10,1074-1081（将所有上述文献以其全部引入文中作为参考）所述的，利福昔明以各种多晶型物、对映体、水合物、溶剂合物和无定形形式存在，并且所述不同形式具有不同的化学-物理性质和生物利用度（参见例如美国专利申请公开号 20080132530，将其以全部内容引入文中作为参考），但是用肠溶微粒制备的以片剂使用的本发明的药物制剂维持利福昔明的形式，包括特别是单独的或与与其他利福昔明形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β。WO2008/029208（还作为美国专利申请公开号 20100010028 公开的（引入文中作为参考））描述稳定利福昔明多晶型形式（特别是 β 形式）的利福昔明多元醇溶剂合物，其也适用于本发明。除了多元醇外，利福昔明的其他溶剂合物也适合于本发明使用。

[0039] 在一优选实施方案中，水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 形式至少是片剂制剂中存在的利福昔明总量的一半。在其它实施方案中，水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 至少是片剂制剂中存在的利福昔明总量的 70%、75%、80%、85%、90%、95% 或 100%。

[0040] 此外，包含根据 WO2006/094737 中所述制备的肠溶微粒中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或者与利福昔明其他晶体或无定形形式混合的）的片剂药物形式包含颗粒外的 (extra-granular) 药学上可接受的赋形剂，其中所有颗粒外赋形剂的总量优选不超过片剂重量的 30%。具体地讲，赋形剂包括崩解剂例如羧甲基纤维素钠（也称作 carmelose）、交联羧甲基纤维素钠（也称作 croscarmelose）或羟乙酸淀粉钠；和润滑剂，例如硬脂酸镁或硬脂酸钙、硬脂酰富马酸钠、植物氢化油、矿物油、聚乙二醇类、十二烷基硫酸钠、甘油酯类、苯甲酸钠。

[0041] 固体组合物的特征在于其是生物粘附的，包括被具有生物粘附性质的化合物包被的微粒。

[0042] 片剂还可含有稀释剂，例如纤维素、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、高岭土、硫酸钙水合物、碳酸钙、乳糖、蔗糖、葡萄糖、葡聚糖、木糖葡聚糖，前提是赋形剂重量的总和总是低于片剂重量的大约 30%，更特别是，占片剂重量的 5.0%-20.0%。

[0043] 任选地，还可将含有利福昔明微粒的片剂用膜包衣包被。其不必是肠溶膜包衣，并且甚至片剂分开 (division) 仍维持肠溶 (gastroresistance)。

[0044] 本发明肠溶片剂的新组合物（包含单独的或与其他无定形、水合的或溶剂化的晶体形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β）希望的和有利的特征是，在一些实施方案中，对于所述片剂来讲，其不必含有在现有技术中通常使用的配体 (ligand) 和 / 或助

流剂赋形剂。

[0045] 含有单独的或与其他利福昔明形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂在 25° C 下稳定超过 3 年，并且在 40° C 下稳定超过 6 个月，所述片剂具有适当的硬度、脆碎度和崩解性，并甚至当片剂分开时，保持其肠溶特性。利用含有单独的或与其他利福昔明形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的肠溶微粒，可制备含有不同量的利福昔明的片剂，因为可将所述微粒与一种或多种本领域公知的赋形剂混合，直到达到需要的片剂重量，作为它们可能的分开的替代。

[0046] 用含有单独的或与利福昔明的其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的微粒制备的片剂可含有 100-800mg 之间（包括 100mg 和 800mg）的不同量的利福昔明，从而使得在患有肠感染和炎性疾病（例如但不限于克罗恩病）的患者中，可将所述片剂有效地施用于需要高剂量（并特别是每天高于 1600mg 的剂量）的适应征，其具有所示的疗效、安全性和耐受性。

[0047] 如果与施用相同微粒的水性溶液剂得到的结果相比，根据本发明制备的片剂在肠炎性疾病如克罗恩病的治疗中显示更高的疗效，所述根据本发明制备的片剂含有肠溶微粒（如 WO2006/094737 中描述的微粒）中的单独的或与其他利福昔明形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β。

[0048] 作为示例，表 1 报道实施例 11 中描述的临床研究中所得到的结果，其中，将施用含有肠溶微粒中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂后，获得疾病完全临床缓解的患者的百分数与接受根据 WO2006/094737 实施例 7 报道而制备的相同微粒的混悬剂的患者进行比较。

[0049] 表 1

[0050]

	如实施例 2 中制备的 400mg 利福昔明片剂 *(本发明的实施例 11)*	水性混悬剂中的利福昔明微粒 *(WO2006/094737 的实施例 7)*
剂量/天	1600 mg	1600 mg
治疗持续时间	12 周	12 周
临床缓解百分数	62.2%	51.9%

[0051] 当与水性混悬剂的微粒中配制的利福昔明相比时，含有水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的本发明新片剂组合物，及其制备方法带来出乎意料的治疗优势。

[0052] 本发明提供包含存在于肠溶微粒中的单独或与其他晶体、水合物、溶剂合物或无定形形式的利福昔明混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的药物固体组合物的用途，其用于施用至有其需要的每天剂量高于 2000mg、持续超过 7 天的治疗期的患者，其不引起利福昔明在血浆中的蓄积。在本发明的研究中，患者在第 1 天接受 1200mg 根据实施例 2 制备的利福昔明；在第 2、3、4、5、6 天接受 2400mg；并在第 7 天接受 1200mg。到第 3 天，达

到稳态血浆浓度，因为与第 7 天给药之前的血浆浓度相比，第 3 天和第 5 天给药之前的血浆浓度没有增加。在本发明的实施方案中，以高于 2000mg/ 天的剂量治疗 5 天或 7 天后，利福昔明药物组合物提供低于 7ng/ml 的利福昔明最大血浆浓度 (Cmax) 值。在另一个实施方案中，以高于 2000mg/ 天的剂量治疗 5 天或 7 天后，根据本发明的药物组合物的应用提供低于 48ng·h/ml 的 AUC_{0-24h} 值。

[0053] 本发明的另一个实施方案提供根据本发明的药物组合物的应用，其中以高于 2000mg/ 天的剂量治疗 5 天或 7 天后，在不到 4 小时达到 Cmax。本发明还提供含有在肠溶微粒中的单独或与其他晶体、水合物、溶剂合物或无定形形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的药物固体组合物的用途，其特征在于无伴随治疗的情况下，它们以 800mg-2400mg 的日剂量有效治疗肠道感染和炎性疾病例如克罗恩病的。

[0054] 在本发明的其他实施方案中，提供治疗患有肠道感染和 / 或炎性疾病例如克罗恩病而需要治疗的人的方法。在一实施方案中，本发明的方法包括向有其需要的患者施用日剂量的含有在肠溶微粒中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或与其他晶体、水合物、溶剂合物或无定形形式的利福昔明混合的）的药物固体组合物，其中剂量高于 2000mg/ 天，持续超过 7 天的治疗期，且不引起利福昔明在血浆中的蓄积。可将本发明的方法用于实现上述本发明的其他用途。

[0055] 本发明还包括含有存在于肠溶微粒中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或与其他晶体、水合物、溶剂合物或无定形形式的利福昔明混合的）的药物组合物，其用于以超过 2000mg 的日剂量施用至需要其的患者，持续多于 7 天的治疗期，而不引起利福昔明在血浆中的蓄积。

[0056] 实施方案的详述

[0057] 通过用含有水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β、具有 300 微米或更小大小的肠溶微粒和药学上可接受的赋形剂制备的肠溶片剂形式的固体组合物来实现本发明的目标。

[0058] 片剂形式的固体组合物可含有一定量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β，其是单独的或者与利福昔明其他形式混合的，100-800mg 水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β，所述片剂形式的固体组合物能在大约 1.5- 大约 4.0 的 pH 值阻止利福昔明释放，并允许利福昔明在大约 5.0- 大约 7.5 的 pH 值释放。

[0059] 用含有单独的或者与利福昔明其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的肠溶微粒得到的根据本发明的固体组合物具有出乎意料的以下特性：疗效和足够的硬度、崩解 (disaggregation)、同质性和随时间推移的稳定性，还允许制备可分开的 (divisible) 片剂，同时保持其肠溶性。

[0060] 含有具有生物粘附性质的肠溶微粒中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或者与利福昔明其他形式混合的）的片剂形式组合物任选地以超过片剂重量 30%、优选片剂重量 5-20% 的量含有药学上可接受的颗粒外赋形剂。

[0061] 所述颗粒外赋形剂包括：崩解剂例如羧甲基纤维素钠（也称作 carmelose）、交联羧甲基纤维素钠（也称作 croscarmelose）或羟乙酸淀粉钠，和润滑剂例如硬脂酸镁或硬脂酸钙、硬脂酰富马酸钠、植物氢化油、矿物油、聚乙二醇类、十二烷基硫酸钠、甘油酯类、苯甲酸钠。

[0062] 所述片剂还可以含有稀释剂例如纤维素、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、高岭土、硫酸

钙二水合物、碳酸钙、乳糖、蔗糖、葡萄糖、多糖、葡聚糖、木糖葡聚糖。所述片剂还可以含有着色剂、矫味剂、抗氧化剂、甜味剂。

[0063] 本发明的一个相关方面是以任何可能比列加入到肠溶微粒中的所有颗粒外赋形剂的总和不超过片剂重量的 30%，并优选为片剂重量的 5%-20%。

[0064] 在本发明的另一方面，提供含有在肠溶微粒中的单独的或者与利福昔明其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂，所述片剂具有足够长的崩解时间，以便该制剂适合于在肠道内释放活性成分利福昔明。优选地，崩解时间是至少 8、8.5 或 9 分钟。

[0065] 本发明的另一方面提供含有在肠溶微粒中的单独的或者与利福昔明其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂，所述片剂具有 180-215 牛顿的硬度，从而在生产和置于泡罩或瓶子的包装过程中能容易地处理片剂，不再需特别的小心。

[0066] 本发明的另一方面是含有在肠溶微粒中的单独的或者与利福昔明其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂，其具有 0.0%-0.1% 的脆碎度值，从而在生产过程中能容易地处理片剂。

[0067] 根据本发明的组合物使得制剂中含有的全部剂量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 和其他可能的利福昔明形式在肠腔内释放。

[0068] 本发明的另一方面提供药物组合物，其可用于治疗 / 改善患有肠道疾病的个体，所述肠道疾病例如但不限于非肠侵袭性细菌引起的感染性肠病患（旅行者腹泻、肠炎、痢疾）；肠道炎症例如克罗恩病、溃疡性直肠 - 结肠炎、肠易激综合征 (IBS)、paucities、小肠细菌过度生长 (SIBO)、憩室综合征；直接或间接源自肠道感染的病患例如肝性脑病，或者可用于手术之前和手术后预防肠道感染。

[0069] 疾病或病症的治疗意指延缓、终止或逆转疾病或病症的恶化，由临床或诊断症状的减轻或消除来证实。所述术语不必意指完全治愈。疾病的任何不期望体征或症状的任何程度的任何减轻或者疾病恶化的延缓可认为是治疗。

[0070] 此外，治疗可包括可能使患者的整体健康感或外表变得更坏的作用。治疗还可包括延长患者的生命，即使症状不缓解，疾病情况不改善或者患者的整体健康感未提高。

[0071] 根据本发明的片剂组合物可包含药学上可接受的赋形剂和 / 或其他活性成分，与其它活性成分联合施用而无危险相互作用。

[0072] 可将本发明的固体片剂组合物包括于药盒中，该药盒中含有用微粒制得的用于治疗患有肠道疾病的患者的片剂和使用所述片剂的说明书，所述微粒含有治疗有效量的单独的或者含有水合物或与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β。

[0073] 本发明的另一方面是在有其需要的人中治疗和 / 或预防肠道感染和炎性疾病的方法或者用于预防肠道疾病的方法，所述方法包括施用含有在肠溶微粒中的单独的或者与利福昔明其他形式的联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的片剂形式的药物组合物，其中可施用一个或多个片剂，以达到治疗有效量，并且其中所述治疗有效量可包括高于每天 1600mg 的剂量，具有所示的效力、安全性和耐受性。在本发明的一实施方案中，剂量可以最多至且包括 2400mg/ 天。根据本发明，其他适合施用的剂量可以是 1700、1800、1900、2000、2100、2200 和 2300mg/ 天。

[0074] 本发明的另一特定方面是用肠溶制剂治疗患者的方法，该方法包括将包含微粒的

药物制剂施用至有其需要的患者，所述微粒含有一定量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或者与利福昔明其他形式联合的），在用所述药物组合物治疗末期，其有效缓解肠道感染和 / 或炎症。所述感染和 / 或炎症可以包括但不限于选自肠易激综合征 (IBS)、克罗恩病、与不受控制的腹泻相关的肠易激综合征 (dIBS)、肝性脑病、腹泻、旅行者腹泻、溃疡性结肠炎、肠炎、小肠细菌过度生长、慢性胰腺炎、胰腺功能不全、结肠炎和憩室综合征的那些。还可将根据本发明的方法用于提供手术介入前的抗菌预防方法。根据本发明的方法的优势是在 10-20 周的治疗期的给药结束时，未观察到患者的毒性作用，并具有良好的耐受性。

[0075] 本发明的另一方面包括使用含有微粒（含有单独的或者与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β）的本发明的固体组合物，以在用肠溶组合物中的利福昔明药物治疗结束后，在超过 3 个月的一段时间维持肠道炎症的缓解。

[0076] 本发明的另一方面是使用本发明制剂（含有在肠溶微粒中的单独的或者与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β）的方法，其包括将高于 1600mg/ 天包括 2400mg/ 天的剂量和上述范围之间的剂量的利福昔明施用至有其需要的患者，以实现患有炎性肠疾病特别是克罗恩病（具有 5-10mg/l 的 C- 反应蛋白值）的患者的疾病缓解。

[0077] 本发明的组合物和方法提供配制为片剂的本发明药物组合物的用于治疗和缓解中度活化的克罗恩病的所示功效，所述药物组合物含有单独的或者与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的肠溶微粒。

[0078] 可将含有肠溶微粒中的利福昔明的片剂形式的 100-800mg 剂量的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或利福昔明其他形式联合的）以相应于一剂量的剂量，一天一次、二次或三次施用；以相应于两剂量的剂量，一天一次、二次或三次施用；以相应于三剂量的剂量，一天一次或二次施用；或者以相应于四剂量的剂量，一天一次或二次施用；而无有关限制或者副作用或者与食品或必须同时服用的其他药物的相互作用。

[0079] 本发明的优点是可将片剂（含有肠溶微粒形式的单独的或者与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β）的施用在任何剂量重复数个治疗周期。所述治疗周期可提供最多至并包括至少 10 或 20 周治疗的利福昔明的施用，或者降低或消除与适合于用利福昔明治疗的肠道疾病例如上述那些疾病包括克罗恩病相关的症状所需要的利福昔明的施用。

[0080] 可将肠溶微粒组合物中的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（单独的或与利福昔明其他形式联合的）单独服用或几乎没有或没有相互作用的其他药物同时服用，所述其它药物例如 5-ASA；免疫抑制剂例如硫唑嘌呤、氨甲喋呤、6- 巯嘌呤；皮质类固醇；生物制品例如英夫利昔单抗、依那西普、阿达木单抗、anakirna。

[0081] 可按照实施例 1 中所述，制备含有单独的或者与利福昔明其他形式联合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的肠溶微粒。微粒的包衣包括优选在 pH 值大约 1.5-4.0 不溶的且在 pH 值 5.0-7.5 可溶的聚合材料。一般来讲，肠溶包衣由在 pH 值 1.5-4.0 不溶且在更高的 pH 值优选 5.0-7.5 的 pH 值可溶的任何材料制成。适合于本发明使用的具体聚合物的示例选自丙烯酸的共聚物例如甲基丙烯酸 - 丙烯酸乙酯共聚物 1:1 和甲基丙烯酸 - 甲基丙烯酸甲酯共聚物 1:2，聚醋酸乙烯邻苯二甲酸酯，邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素，邻苯

二甲酸醋酸纤维素，例如以商标**Kollicoat®**、**Eudragit®**、**Aquateric®**、**Aqoat®**市售的。

[0082] 如果与肠溶颗粒的总重量相比，用于制备在本发明中所用微粒的肠溶材料的量优选是10%-60%，更优选是20%-40%。在施用至微粒中的活性成分上的肠溶包衣还可任选地含有增塑剂、稀释剂、抗粘着剂(antiadherents)、抗粘合剂(antiagglomerants)、助流剂、消泡剂、着色剂和抗氧化剂。

[0083] 将用于包衣微粒的成分利用有机溶剂溶解或者将其保持于水性混悬液中。通过喷雾将包衣材料的溶液或混悬液施用在粉末或颗粒或微粒上，施用过程中，所述粉末或颗粒或微粒在包衣锅内保持移动或者气悬于流化床装置中。

[0084] 可用于溶解包衣材料的有机溶剂的非限制性示例是二氯甲烷、甲基酸(methyl acid)、异丙醇、醋酸三乙酯和乙醇。

[0085] 作为替代，可通过水性混悬液施用肠溶聚合材料，其是优选的技术，因为它不需要使用需要相关毒性和安全性考虑的溶剂。

[0086] 还可用制药领域技术人员已知的其他方法制备肠溶微粒。所述技术可包括例如将活性成分利福昔明与稀释剂、助流剂和配体一起制粒和将干燥和过筛的微粒用肠溶包衣进行连续包衣过程。

[0087] 可用于制备微粒的另一个系统涉及利用配体化合物将利福昔明施用于具有约100 — 200微米直径的微晶纤维素颗粒，并将得到的微粒用肠溶薄膜进行连续包衣过程，所述配体化合物选自纤维素、纤维素衍生物、淀粉、马铃薯淀粉、玉米淀粉、树胶、合成树胶、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纤维素钠、微晶纤维素、羟丙纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、聚乙二醇、明胶、聚丙二醇、海藻酸、海藻酸盐、糖类及其组合。

[0088] 描述了根据本发明的肠溶片剂的制备，其中可将特定多晶型形式的利福昔明包含于肠溶微粒中。肠溶微粒的制备方法优选包括实施例1中所述的引入水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的特定条件。

[0089] 可利用本领域公知的方法和根据例如美国专利号7,045,620和美国专利申请公开号US20080262220中所述那样制备利福昔明 β，将所述两篇文献以其全部引入文中作为参考。如果水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 制备自 α 利福昔明，多晶型物 α 利福昔明的一种来源是目前已在欧洲被批准并商品化用于临床使用且作为**Normix®**出售的利福昔明。WO2008/029208(还作为美国专利申请公开号20100010028公开(将其引入文中作为参考))中描述了适合本发明使用的利福昔明 β 的溶剂合物的示例，WO2008/029208描述了稳定利福昔明的多晶型形式特别是 β 多晶型物的利福昔明的多元醇溶剂合物。除了用多元醇，利福昔明的其他溶剂合物也适合于本发明使用。

[0090] 肠溶微粒具有生物粘附性质，这意味着其可粘附至粘膜。

[0091] 可包括于微粒中的聚合物和低聚体或其混合物的示例是果胶、玉米醇溶蛋白(zeins)、酪蛋白、明胶、白蛋白、胶原、kitosan、寡糖和多糖，诸如纤维素、葡聚糖、来自罗望子种子的多糖、黄原胶、阿拉伯胶、透明质酸、海藻酸、藻酸钠。

[0092] 当生物粘附剂是合成聚合物，该聚合物选自聚酰胺类、聚碳酸酯类、聚烯烃类(polyalkylenes)、聚烷二醇类、聚环氧烷类、聚对苯二甲酸烷二酯类(polyalkylene

terephthalates)、聚乙烯醇、聚乙烯醚类、聚乙烯酯类、聚乙烯吡咯烷酮、聚硅氧烷类、聚氨基甲酸酯类 (polyurethanes)、聚苯乙烯类、丙烯酸和甲基丙烯酸酯的聚合物、甲基丙烯酸－丙烯酸乙酯共聚物、聚乳酸类、聚巴比妥酸类、聚酐类、聚原酸酯类及其混合物。其他可用的聚合物是甲基纤维素、乙基纤维素、羟基丙基纤维素、羟基丁基甲基纤维素、醋酸纤维素、丙酸纤维素、醋酸丁酸纤维素、羧甲基纤维素、三醋酸纤维素、纤维素硫酸钠盐、聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸异丙酯、聚丙烯酸异丁酯、聚（丙烯酸十八烷基酯）、聚丙烯、聚乙二醇、聚氧化乙烯、对苯二甲酸乙二酯 (polyethylene terephthalate)、聚乙酸乙烯酯、聚氯乙烯、聚苯乙烯、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯苯酚及其混合物。

[0093] 另一组可用于实现生物粘附的聚合物是包含含有至少一个键合疏水基团的分支基团的聚合物，其中疏水基团通常是非极性基团。所述疏水基团的非限制性示例包括烷基、烯基和炔基基团。优选地，选择疏水基团以提高聚合物的生物粘附性。其他聚合物特征在于具有至少一个亲水基团的疏水分支，所述亲水基团例如羧酸、磺酸和膦酸；中性和正电荷胺、酰胺和亚胺，其中亲水基团是提高聚合物生物粘附性的那些。

[0094] 根据优选的方法，通过将各种组分混悬于去矿物质水中并通过用高速搅拌系统优选 Ultra Turrax 匀化器匀化处理含水混悬液，以得到含有 15%-30% 固体颗粒的均质混悬液，来制备含有适合于形成包衣的化合物的混合物。然后，可利用包衣锅或利用流化床包衣技术，例如在实施例 1 的表 2 报道的条件下操作，利用表 3 所列的赋形剂，将肠溶包衣施用至药物形式。

[0095] 对于片剂的生产，与制成的片剂的总重量相比，可将药学上可接受的颗粒外 (extragranular) 赋形剂以优选低于 30% 并更优选以 5%-20% 的重量添加至肠溶微粒中。

[0096] 颗粒外赋形剂包括崩解剂，其可选自羧甲基纤维素钠（也称作 carmelose 钠）、交联羧甲基纤维素钠（也称作 croscarmelose）、聚乙烯吡咯烷酮（也称作聚维酮）、交联聚乙烯吡咯烷酮（也称作交聚维酮）、淀粉、预胶化淀粉、二氧化硅 (silica)；和润滑剂，其选自硬脂酸镁或硬脂酸钙、硬脂酰富马酸钠、植物氢化油、矿物油、聚乙二醇、十二烷基硫酸钠、甘油酯类、苯甲酸钠。

[0097] 本发明的片剂还可包含稀释剂，其选自例如纤维素、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、高岭土、硫酸钙二水合物、碳酸钙、乳糖、蔗糖、葡萄糖、山梨醇和甘露醇。也可任选地将着色剂、矫味剂、抗氧化剂和甜味剂加入到片剂制剂中。

[0098] 可任选地将一种或多种崩解剂、一种或多种润滑剂和可能的一种或多种稀释剂用于片剂的生产中。

[0099] 将含有单独的或者与利福昔明其他形式混合的水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的微粒、崩解剂、润滑剂和任选的稀释剂、着色剂、抗氧化剂和甜味剂的混合物置于本领域已知的压片机中，所述压片机装配有用于制备具有所需形状和大小的片剂的合适的模具。

[0100] 可将片剂形式的组合物用构成包衣的混合物包被，其中所述包衣包含例如滑石、纤维素衍生物、抗氧化剂、盐、着色剂、矫味剂。

[0101] 根据本发明的优选实施方案，片剂中含有的崩解剂的量是片剂重量的大约 3%-8%；润滑剂的量是片剂重量的大约 2%-3%；且稀释剂的量是片剂重量的大约 0%-10%。

[0102] 如上所述的，根据引入的含利福昔明的微粒的量，可将片剂配制成含有不同量的

水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β（或者与利福昔明其他形式联合的）。

[0103] 实施例 2-9 描述了几种用于制备包含含有水合物或溶剂合物形式的利福昔明 β 的肠溶微粒的片剂的有用组合物，特征在于它们具有低于片剂重量的 20% 重量的颗粒外赋形剂。

[0104] 实施例 2 描述片剂的制备，其中将崩解剂例如交联羧甲基纤维素钠和润滑剂例如硬脂酸镁和稀释剂例如微晶纤维素加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中所述组分的总和低于片剂重量的 10%。所得到的片剂制品不改变根据实施例 1 制备的肠溶微粒中所含利福昔明的多晶型形式。

[0105] 具体地讲，表 5 报告根据实施例 2 中所述制备的含有 400mg 利福昔明的片剂的精确组成，特征在于其含有相同比例的肠溶微粒和表 4 的颗粒外赋形剂，并具有包衣，其中总重量低于 710mg。

[0106] 在本发明的该具体实施方案中，得到的肠溶片剂的特征在于它们保持肠溶微粒中所含利福昔明的形式，具有 198 牛顿的硬度值，8.5 分钟的崩解时间，并且不是易碎的。

[0107] 实施例 3 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）和润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中所述两种组分的总和低于片剂重量的 7%。

[0108] 实施例 4 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）和润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）和稀释剂（在该实施例中为微晶纤维素）加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中所述组分的总和低于片剂重量的 6%。

[0109] 实施例 5 描述包含根据实施例 1 制备微粒中的利福昔明的片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）和润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）加入到含有比实施例 3 中存在的利福昔明更大量的利福昔明的肠溶微粒中，其中所述两种组分的总和低于片剂重量的 7%。

[0110] 实施例 6 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）、润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）和稀释剂（在该实施例中为微晶纤维素）加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中所述颗粒外赋形剂的总和低于片剂重量的 12%。

[0111] 实施例 7 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）和润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）和基于微晶纤维素混合物的稀释剂加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中颗粒外赋形剂组分的总和低于片剂重量的 16%。

[0112] 实施例 8 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为羟乙酸淀粉钠）和润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）和基于微晶纤维素混合物的稀释剂加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中颗粒外赋形剂组分的总和低于片剂重量的 17%。

[0113] 实施例 9 描述片剂的制备，其中将崩解剂（在该实施例中为交联羧甲基纤维素钠）、润滑剂（在该实施例中为硬脂酸镁）和稀释剂（在该实施例中为微晶纤维素）加入到根据实施例 1 制备的含有利福昔明的肠溶微粒中，其中颗粒外赋形剂组分的总和低于片剂重量的 12%。

[0114] 可以以能将其分开为更小剂型例如 2、3 或 4 部分的形状得到片剂，其中所述分开 (division) 允许进一步的剂量可变性，而不失去肠溶性质。

[0115] 本发明的片剂在25° C-30° C的温度下，稳定超过12个月的一段时间，并且在40° C的温度下，稳定超过6个月的一段时间。

[0116] 已根据实施例10中所述，进行根据实施例2制备的片剂形式组合物中利福昔明的安全性测定，其中18个健康志愿者通过餐前和餐后施用利福昔明片剂而每天接受高于1000mg剂量的利福昔明。得到的结果显示无与药物施用相关的不利事件或者与其使用相关的其他禁忌被报道。

[0117] 还已经在患有炎性肠疾病例如克罗恩病的患者中，评价了根据实施例2制备的含有肠溶颗粒中的利福昔明的片剂形式的组合物中利福昔明的安全性。具体地讲，如实施例10中所述，给18个患有活化克罗恩病的禁食患者施用高于1000mg/天剂量的根据实施例2制备的利福昔明片剂。得到的结果表明无与药物施用相关的不利事件或者与其施用相关的其他禁忌被报道。

[0118] 实施例11描述临床试验，其中与安慰剂相比，将402个具有220-400的CDAI值的患有肠炎的患者用根据实施例2制备的含有利福昔明的片剂形式的本发明组合物治疗12周的一段时间。

[0119] 将临床试验的患者分成4组：

[0120] A组：给患者施用一片400mg根据实施例2制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂，一天两次，总共800mg剂量的利福昔明；

[0121] B组：给患者施用两片400mg根据实施例2制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂，一天两次，总共1600mg剂量的利福昔明；

[0122] C组：给患者施用三片400mg根据实施例2制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂，一天两次，总共2400mg剂量的利福昔明；

[0123] D组：给99个患者施用3片安慰剂片，一天两次。

[0124] 如果临床试验开始之前已在用，那么所有患者维持其伴随(concomitant)治疗。

[0125] 表13报告患有克罗恩病的患者的临床试验结果，向所述患者以800mg/天至2400mg/天的剂量施用实施例2所述的片剂形式的新组合物和安慰剂。

[0126] 依据表13中报告的结果，根据实施例2制备的含有利福昔明的肠溶微粒的片剂比安慰剂更有效。从表13可以看到，与安慰剂相比：在治疗结束时，更大百分比的患者得到临床缓解；在治疗结束时，更大百分比的患者具有临床反应；治疗结束12周后，更大百分比的患者维持临床反应；获得临床缓解的天数降低；且对临床治疗不响应的患者百分数也降低。

[0127] 表14中描述与接受安慰剂的患者相比，用根据实施例2制备的含有利福昔明肠溶微粒的片剂治疗的患者的不良事件和不良反应的评价。评价显示与安慰剂相比，几个利福昔明剂量的不良事件的数目和严重程度无任何差异。所述结果证实以800mg/天-2400mg/天日剂量的含有肠溶利福昔明的片剂是安全的。

[0128] 实施例12描述施用高日剂量根据实施例2制备的含有利福昔明肠溶微粒的片剂的患者（具有大于5mg/l的蛋白C反应值）的克罗恩病的临床缓解。表15报道与施用安慰剂或者低于1600mg/天剂量的患者相比，对于施用高于1600mg/天剂量的患者，在治疗结束时更高百分比的患者获得临床缓解。

[0129] 实施例13描述：向12个患有轻度至中等程度活化克罗恩病的患者，重复施用根据

实施例 2 制备的含有利福昔明的肠溶片剂后，血浆中利福昔明蓄积的评价。

[0130] 将根据实施例 12 制备的肠溶片剂形式的利福昔明以下述量施用至患者：相当于第 1 天 1200mg；第 2、3、4、5、6 天，1200mg，一天两次，总剂量等于 2400mg/ 天；和第 7 天 1200mg，7 天内 14400mg 总剂量的利福昔明。

[0131] 在第 3 天和第 5 天用药之前的利福昔明的血浆浓度值与第 7 天用药之前的血浆浓度是相当的，表明利福昔明血浆浓度达到稳态。

[0132] 在第 1 天施用第一剂量之前和直到治疗施用该剂量后 24 小时和最多至第 7 天治疗的最后剂量后 48 小时，分析利福昔明的血浆浓度。还在第 3 天和第 5 天施用剂量之前，测定血浆浓度。

[0133] 测定药物动力学参数，例如达到的最大血浆浓度 (C_{max})，血浆浓度曲线下面积 (AUC_{last}) 和达到最大浓度的时间 (T_{max})。

[0134] 表 16 报告第 1 天和第 7 天施用利福昔明后的 Cmax、AUClast 和 Tmax 值。结果表明利福昔明在患有轻度至中度活化的克罗恩病的患者中是难以吸收的，并甚至在重复施用高剂量的根据实施例 2 制备的利福昔明后，利福昔明不在血浆中蓄积。

[0135] 实施例 14 描述肠溶片剂形式的利福昔明在患有中度活化克罗恩病而无伴随治疗的患者中的功效，所述患者已用等于 800、1600 和 2400mg/ 天剂量的根据实施例 2 制备的利福昔明治疗。

[0136] 将患者分成四组，其中：

[0137] A 组：已用一片 400mg 根据实施例 2 制备的利福昔明片剂治疗，一天施用两次，等于 800mg/ 天的总剂量；

[0138] B 组：已用两片 400mg 根据实施例 2 制备的利福昔明肠溶片剂治疗，一天施用两次，等于 1600mg/ 天的总剂量；

[0139] C 组：已用三片 400mg 根据实施例 2 制备的利福昔明片剂治疗，一天施用两次，等于 2400mg/ 天的总剂量；

[0140] D 组：已用不含利福昔明的肠溶片剂（安慰剂）治疗。

[0141] 表 17 显示其中用利福昔明肠溶片剂治疗的患者比用安慰剂治疗的患者获得更大的临床缓解的结果。特别是，与安慰剂相比，用等于 1600mg/ 天剂量的根据实施例 2 制备的利福昔明治疗的患者组在临床缓解率方面显示统计学显著差异。

[0142] 溃疡性结肠炎和克罗恩病伴随结肠直肠癌 (CRC) 的风险增高。如 Eaden 等人在 Gut，2001，48，526-35 中和 Roessner 在 Pathol. Res. Pract. 2008，204，511-24 中所述，由于与肠疾病相关的慢性炎症引起的氧化应激可能是 IBD 患者中 CRC 的诱因之一。

[0143] 粪便内含物检查是监控结肠粘膜层暴露于致诱变物质和遗传毒性物质的无创性方法。

[0144] 如例如 Venturi 等人在 Carcinogenesis1997，18，2353-9 中和 Klinder 在 Nutr. Cancer2007，57，158-67 中所述，已成功将单细胞凝胶电泳 (Comet 测试）用于营养干预研究，以监控结肠癌细胞株中的 DNA 损伤。通过 Comet 测试，实施例 15 描述利福昔明治疗对粪便水遗传毒性和 DNA 损伤的作用，并且其表明在接受根据实施例 2 制备的利福昔明的患者中，显示粪便水诱导的链断裂的显著降低。

[0145] 下面的实施例描述根据实施例 2 制备的含有利福昔明的肠溶片剂的制备，以及其

在炎性肠疾病治疗中的用途，并应认为下面的实施例是对本发明的进一步解释，而无任何限制。

[0146] 实施例 1

[0147] 利福昔明肠溶微粒的制备

[0148] 向装备有 18- 英寸 Wurster 系统和 1.8mm 喷雾嘴的流化床设备 Glatt GPC30 中装入 25000g 利福昔明粉末和 125g Aerosil 作为流化剂 (fluidiser)。同时，在混合器中、搅动条件下，利用 48107g 去矿物质水、9281g 以商标 KOLLICOAT® MAE100P 市售的甲基丙烯酸丙烯酸乙酯共聚物、1392g1,2- 丙二醇、2475g 滑石、557g 二氧化钛 FU 和 62g 氧化铁 E172 制备混悬液。将该混悬液的固体成分在去矿物质水中用高速匀化器 (Ultra Turrax) 混合均匀。将制备的混悬液加入装备有蠕动泵的 Wurster 型设备中，并 1.0-1.5bar 压力下，通过 1.8mm 喷嘴喷雾至在流化床中经热气流而维持悬浮的利福昔明粉末和 Aerosil200 的混合物。

[0149] 表 2 描述了所应用的条件 ：

[0150] 表 2

[0151]

方法参数	预热相	施用包衣溶液	干燥
入口气流 (m^3/ 小时)	400±100	550±100	350±50
入口空气温度 (° C)	60±2	60±10	70±2
产品温度 (° C)	32	25-27	30±2
喷雾压力 (bar)(起始相)		1-1.5±0.1	
喷雾速度 (g/min)		150-200	

[0152] 利用 Malvern Mastersizer2000 仪器，通过光散射技术，将得到的微粒进行粒度分析，其致使超过 91% 的微粒具有低于 300 微米的直径。

[0153] 表 3 中描述了含有利福昔明的微粒组合物。

[0154] 表 3

[0155]

组合物	量(克)	量(%)
利福昔明	25000	64.3
二氧化硅 (Aerosil ® 200)	125	0.3
甲基丙烯酸-甲基丙烯酸甲酯共聚物 1:1(Kollicoat® MAE 100P)	9281	23.9
1,2-丙二醇	1392	3.6

[0156]

滑石	2475	6.4
二氧化钛 FU	557	1.4
氧化铁 E172	62	0.2

[0157] 通过 X- 射线衍射分析得到的微粒。衍射图表明利福昔明具有如 Crist.Eng. Comm.10,1074-1081(2008) 中所确定的 β 形式的特征峰。

[0158] 实施例 2

[0159] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0160] - 组合物 1-

[0161] 将根据实施例 1 所述制备的含有利福昔明的微粒与预先在 0.8mm 网筛上过筛的 croscarmelose (Ac-Di-Sol®)和微晶纤维素 (Avicel PH 102®) 混合。然后,向得到的混合物中加入硬脂酸镁。得到的组合物描述在表 4 中。

[0162] 表 4

[0163]

组合物	量 (mg)	组分百分数 (p/p)
从实施例 1 得到的肠溶微粒	10000	90.3
交联羧甲基纤维素钠(Ac-Di-Sol®)	552	5.0
微晶纤维素 (Avicel PH 102®)	384	3.5
硬脂酸镁	138	1.2

[0164] 将得到的均匀混合物置于装有 10mm 凹面模具的压片机例如 Killian 中。

[0165] 然后,利用薄膜衣材料滑石、羟丙基甲基纤维素、EDTA 钠盐、1,2- 丙二醇、氧化铁 E172 将片剂进行包衣。将片剂在 41° C-43° C 的温度下经热气流进行加热,并将薄膜衣材料喷在片剂上。

[0166] 以 626mg 微粒的最终重量,如表 5 所述的含有 400mg 利福昔明的片剂总组合物相应于 709mg 的片剂总重量。

[0167] 其中利福昔明是片剂形式的药物组合物可包含加入到微粒中的 100mg-800mg 的不同量的利福昔明,所述微粒含有相应的所需量的利福昔明、较少或较大量的稀释剂、崩解剂和润滑剂。

[0168] 表 5

[0169]

组合物	重量(mg)	% (p/p)
微粒		
利福昔明	400.0	56.4
无水胶体二氧化硅 (Aerosil® 200 Pharma)	2.0	0.3
甲基丙烯酸丙烯酸乙酯共聚物 (Kollicoat® MAE100 P)	148.5	20.9
1,2-丙二醇	22.3	3.1
滑石	39.6	5.6
二氧化钛	9.9	1.4
片剂		
交联羧甲基纤维素钠 (AcDiSol®)	34.5	4.9
微晶纤维素 (Avicel PH 101®)	24.0	3.4
硬脂酸镁	8.6	1.2
薄膜包衣		
羟丙基甲基纤维素	14.1	2.0
二氧化钛	4.1	0.6
1,2-丙二醇	0.1	0.01
EDTA	1.4	0.2
氧化铁 E172	0.4	0.06

[0170] 通过 X- 射线衍射分析得到的片剂，表明利福昔明的形式保持未变。

[0171] 在 37° C±1° C 的温度下，在崩解仪中测量 8 片片剂在 800ml 去矿物质水中的崩解，得到片剂的崩解时间。

[0172] 平均值对应于 8.5 分钟。

[0173] 根据欧洲药典 6.6 版 5100 页所述，测定片剂的脆碎度值。将 10 片片剂置于塑料圆筒里，将它们暴露于滚动和重复的振动中。10 分钟后，将片剂称重。将重量损失值表示为百分数。重量损失是 0.1%。

[0174] 根据欧洲药典 6.0 版 279 页所述，测定片剂的硬度。将 10 片片剂置于设备例如 ERWEKA TBH-320D 中。得到的硬度的平均值是 198 牛顿。

[0175] 实施例 3

[0176] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0177] - 组合物 2-

[0178] 通过将 65.15g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 40g 利福昔明）与预先在 0.8mm 网筛上过筛的 4.15g 羟乙酸淀粉钠混合，得到制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入 0.7g 硬脂酸镁。表 6 中报告了所述组合物。

[0179] 表 6

[0180]

组合物	量 (g)	组合物 % (p/p)
根据实施例 1 制备的利福昔明的肠溶微粒	65.15	93.1%
羟乙酸淀粉钠(Explotab®)	4.15	5.9%
硬脂酸镁	0.7	1%

[0181] 将得到的混合物置于压片机例如实施例 2 中所述的 Killian 中。

[0182] 实施例 4

[0183] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0184] - 组合物 3-

[0185] 通过将 297.78g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 180.47g 利福昔明）、预先在 0.8mm 网筛上过筛的 11.28g 羟乙酸淀粉钠、4.51g 微晶纤维素 (Avicel PH 120®）混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入硬脂酸镁 (2.26g)。表 7 中描述了所述组合物。

[0186] 表 7

[0187]

组合物	量 (g)	%组合物 (p/p)
根据实施例 1 制备的肠溶微粒	297.78	94.3%
羟乙酸淀粉钠 (Explotab®)	11.28	3.6%
微晶纤维素 (Avicel PH 102®)	4.51	1.4%
硬脂酸镁	2.26	0.7%

[0188] 将得到的混合物置于压片机例如实施例 2 中所述的 Killian 中。

[0189] 实施例 5

[0190] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0191] - 组合物 4-

[0192] 通过将 279.78g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 180.47g 利福昔明）和预先在 0.8mm 网筛上过筛的 18.86g 羟乙酸淀粉钠混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入硬脂酸镁 (1.35g)。表 8 中报告了所述组合物。

[0193] 表 8

[0194]

组合物	量 (g)	组合物 % (p/p)
根据实施例 1 制备的肠溶微粒	279.79	94.3%
羟乙酸淀粉钠(Explotab®)	18.86	6.3%
硬脂酸镁	1.35	0.45%

[0195] 将得到的混合物置于压片机例如实施例 2 中所述的 Killian 中。

[0196] 实施例 6

[0197] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0198] - 组合物 5-

[0199] 通过将 231.0g 根据实施例 1 所述制备的肠溶微粒（含有 139.3g 利福昔明）、预先在 0.8mm 网筛上过筛的 15.6g 羟乙酸淀粉钠和 13g 微晶纤维素 (Avicel PH 102®) 混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入硬脂酸镁 (1.0g)。表 9 中报告了所述组合物。

[0200] 表 9

[0201]

组分	量(g)	%组合物(p/p)
从实施例 1 中得到的利福昔明肠溶微粒	231.00	88.64%
羟乙酸淀粉钠(Explotab®)	15.60	5.99%
微晶纤维素 (Avicel PH 102®)	13.00	4.99%
硬脂酸镁	1.00	0.38%

[0202] 利用压片机例如实施例 2 中所述的 Killian，将得到的混合物压片。

[0203] 实施例 7

[0204] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0205] - 组合物 6-

[0206] 通过将 207.9g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 117.3g 利福昔明）、预先在 0.8mm 网筛上过筛的 14.1g 羟乙酸淀粉钠、由 11.7gAvicel PH 102®和 12.3 g Avicel PH 101®构成的微晶纤维素混合物混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物，并向得到的混合物中加入硬脂酸镁 (1.0g)。表 10 中报告了所述组合物。

[0207] 表 10

[0208]

组合物	量 (g)	% 组合物 (p/p)
根据实施例 1 制备的利福昔明肠溶微粒	207.90	84.20%
羟乙酸淀粉钠 (Explotab®)	14.10	5.71%
微晶纤维素 (Avicel PH 102®)	11.70	4.74%
微晶纤维素 (Avicel PH 101®)	12.30	4.98%
硬脂酸镁	0.90	0.36%

[0209] 将得到的混合物在压片机例如实施例 2 中所述的 Killian 中压片。

[0210] 实施例 8

[0211] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0212] - 组合物 7-

[0213] 通过将 207.9g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 117.3g 利福昔明）、预先在 0.8mm 网筛上过筛的 14.1g 羟乙酸淀粉钠和由 11.7g Avicel PH **102**®和 12.3 g Avicel PH **101**®构成的微晶纤维素混合物混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入 2.15g 硬脂酸镁。表 11 中报告了所述组合物。

[0214] 表 11

[0215]

组合物	量 (g)	%组合物 (p/p)
根据实施例 1 制备的利福昔明肠溶微粒	207.90	83.78%
羟乙酸淀粉钠 (Explotab®)	14.10	5.68%
硬脂酸镁	2.15	0.87%
微晶纤维素 (Avicel PH 102®)	11.70	4.71%
微晶纤维素 (Avicel PH 101®)	12.30	4.96%

[0216] 将得到的混合物在压片机例如实施例 2 中所述的 Killian 中压片。

[0217] 实施例 9

[0218] 含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂的制备

[0219] - 组合物 8-

[0220] 通过将 200.9g 根据实施例 1 所述制备的利福昔明肠溶微粒（含有 113.3g 利福昔明）、预先在 0.8mm 网筛上过筛的 11.3g 交联羧甲基纤维素钠 **(Ac-Di-Sol®.)** 和 11.3g 微

晶纤维素（Avicel PH 101®）混合，得到用于制备肠溶片剂的混合物。向得到的混合物中加入 2.30g 硬脂酸镁。表 12 中报告了所述组合物。

[0221] 表 12

[0222]

组合物	量 (g)	%组合物 (p/p)
根据实施例 1 制备的利福昔明肠溶微粒	200.0	88.93%
交联羧甲基纤维素钠 (Ac-Di-Sol®)	11.30	5.02%
微晶纤维素 (Avicel PH 101)	11.30	5.02%
硬脂酸镁	2.30	1.02%

[0223] 实施例 10

[0224] 在健康志愿者和患有克罗恩病的患者中测试包含含有利福昔明的肠溶微粒的片剂的安全性

[0225] 在施用药物之前和施用之后，通过评价不良影响的发生率、重要参数例如血压、心率、体温，仪器评价例如心电图和实验室分析例如血液和尿分析，来测定组合物的安全性。

[0226] 在禁食和进食条件下，向 18 个健康志愿者（9 个男性和 9 个女性）施用根据实施例 2 得到的含有 400mg 利福昔明的三片片剂，总量 1200mg/ 天的利福昔明，进行交叉研究，禁食条件和进食条件下的施用之间有 8 天的间隔。

[0227] 本项研究中报道了 4 起不良事件生。在所有案例中，它们是与药物施用无关的中度 - 轻度级别的头痛。

[0228] 对于药物施用后的重要参数例如血压、心率和生化血液和尿分析，显示没有变化。

[0229] 已在患有炎性肠道疾病例如克罗恩病的患者中，评价实施例 2 中所述片剂药物组合物的安全性。

[0230] 向 18 个患有中度活化克罗恩病的患者施用 3 片实施例 2 中得到的 400mg 利福昔明片剂，总量 1200mg/ 天。

[0231] 药物施用之前和药物施用之后，通过测试关于重要参数例如血压、心率、体温的不良影响发生率和仪器评价例如心电图以及实验室分析例如血液和尿分析，来测定安全性。

[0232] 研究期间仅登记一个不良事件（贫血），研究者判定该事件不是药物相关的。

[0233] 对于药物施用后的血液和尿生化分析，显示没有变化。此外，未观察到重要参数的显著变化。

[0234] 根据所有这些结果，根据实施例 2 制备的药物是良好耐受的。

[0235] 实施例 11

[0236] 用含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂治疗克罗恩病患者

[0237] 在患有克罗恩病的患者中，在相对安慰剂的多中心随机双盲试验中，施用根据实施例 2 制备的含有利福昔明的肠溶微粒的片剂形式的组合物。

[0238] 将 410 个患有轻度至中度活化克罗恩病、具有 220-400CDAI 值的患者招募进本试验中。8 个患者未接受任何治疗。

[0239] 引起临床缓解的利福昔明效力（定义为低于 150 的 CDAI 值）表示临床试验的初始结束点。

[0240] 临床试验的结束点还表示利福昔明引起临床反应的效力（定义为相对于基底值至少 100 点的 CDAI 值降低）；以及表示治疗中止后，利福昔明治疗引起的临床缓解维持 12 周的一段时间。

[0241] 将治疗失败定义为治疗一个月后，无至少 70 点的 CDAI 值降低；或者治疗期间 CDAI 值升高 100 点；或者需要外科或援救药物治疗或伴随治疗剂量增加。将患者分成四组：

[0242] A 组：给 101 个患者施用一片 400mg 根据实施例 2 制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂和两片安慰剂片，一天两次，总共 800mg 剂量的利福昔明；

[0243] B 组：给 104 个患者施用两片 400mg 根据实施例 2 制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂和一片安慰剂片，一天两次，总共 1600mg 剂量的利福昔明；

[0244] C 组：给 98 个患者施用三片 400mg 根据实施例 2 制备的包含于肠溶微粒中的利福昔明的片剂，一天两次，总共 2400mg 剂量的利福昔明；

[0245] D 组：给 99 个患者施用 3 片安慰剂片，一天两次。

[0246] 将所有患者治疗 12 周的一段时间。临床试验期间，患者可继续接受伴随治疗例如 5-ASA 和 / 或免疫抑制剂 (azatioprine、甲氨蝶呤、6- 巯嘌呤等)，只要临床试验开始之前三个月一直和整个临床试验期间他们被以稳定剂量给药。

[0247] 治疗结束时，跟随因所述治疗获得临床缓解的患者再 12 周的一段时间，以便测定治疗中止后的缓解时长。

[0248] 通过分析不良事件；血液和尿实验室分析和主要体征例如血压、温度和心率而评价所用治疗的安全性。就临床缓解、临床反应和治疗失败率，以及治疗结束后 12 周维持缓解的患者百分数而言，表 13 中报道的临床试验结果表明 800mg/ 天 -2400mg/ 天的日剂量的根据实施例 2 制备的且含有根据实施例 1 制备的利福昔明肠溶微粒的片剂比安慰剂更有效。此外，对于接受安慰剂的患者，缓解的中位时间是 47 天；对于一天两次施用利福昔明 -EIR400mg 的患者，缓解的中位时间是 35 天；对于一天两次接受利福昔明 -EIR800mg 的患者，缓解的中位时间是 27 天；并对于一天两次用利福昔明 -EIR1200mg 的患者，缓解的中位时间是 38 天。

[0249] 表 13

[0250]

	安慰剂	利福昔明(实施例 2 片剂) 800 mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 1600 mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 2400 mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂)集合剂量(pooled dose)
治疗结束时的临床缓解(EOT)	42.6% (43/101)	53.8% (56/104)	62.2% * (61/98)	47.5% (47/99)	54.5%* (164/301)
临床反应 EOT	55.9% (52/93)	62.8% (59/94)	72.0% * (67/93)	57.5% (50/87)	64.2% (176/274)
自治疗结束 12 周后，临床缓解的维持	28.6% (28/98)	38.2% (39/102)	44.9% * (40/89)	31.9% (30/94)	38.2% (109/285)
获得临床缓解的时间	47 天	35 天	27 天	38 天	33 天
治疗失败率	44.6% (45/101)	38.5% (40/104)	25.5%* (25/98)	38.4% (38/99)	34.2% (103/301)

[0251] (*)p<0.05

[0252] 表 14 中总结了治疗期和随访期间报告的所有不良事件的总发生率。由以 800mg/天 -2400mg/ 天的日剂量施用含有在肠溶微粒中的利福昔明的片剂引起的不良事件和不良反应的发生率与安慰剂的相当。研究组之间无显著差异。

[0253] 表 14

[0254]

	安慰剂	利福昔明(实施例 2 片剂) 800mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 1600mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 2400 mg/天
%具有不良事件的患者	45	35	38	45
%具有不良反应的患者	13	9	8	18

[0255] 实施例 12

[0256] 用高剂量利福昔明使患有克罗恩病（其特征在于具有 5mg/l-10mg/l 的 C 反应蛋白值）的患者临床缓解

[0257] 施用实施例 2 得到的含有利福昔明的片剂后，评价患有具备实施例 11 中的特征且具有 5mg/l-10mg/l 基线 C 反应蛋白质值的克罗恩病的患者百分数。

[0258] 表 15 报告的临床结果显示 2400mg/ 天剂量的利福昔明在引起临床缓解方面是更有效的。

[0259] 表 15

[0260]

	安慰剂	利福昔明(实施例 2 片剂) 800mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 1600mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 2400 mg/天	利福昔明(实施例 2 片剂) 集合剂量
具有 5-10mg/l CPR 的患者的临床缓解 EOT	43.8%	54.5%	66.7% *	68.8%	64.3%*
具有 CPR>5mg/l 的患者的临床缓解 EOT	36.5%	47.1%	62.0%	46.8%	52.0%
具有最近诊断的 CD 的患者的临床缓解	51.0%	61.2%	75.6%	58.7%	65.0%
具有位于回肠-结肠和结肠的 CD 的患者的临床缓解 EOT	36.8%	52.2%	56.3%	42.4%	50.5%

[0261] 实施例 13

[0262] 评价施用重复剂量后，血浆中的蓄积

[0263] 将根据实施例 2 制备的含有利福昔明肠溶微粒的片剂形式的组合物以重复剂量施用至 12 个 18-75 岁的患者，以评价血浆中利福昔明的蓄积，所述患者患有位于回肠和 / 结肠的轻度至中度活化的克罗恩病。

[0264] 将根据实施例 2 制备的含有利福昔明的肠溶片剂以如下剂量施用至患者 ：第 1 天 1200mg ；第 2、3、4、5、6 天，1200mg 一天两次 (早晨和晚上)，相当于 2400mg/ 天总剂量 ；和第 7 天 1200mg，7 天内 14400mg 利福昔明总剂量。

[0265] 测定利福昔明的血浆浓度 ：

[0266] 第一天，第一次施用前和自第一次施用起 1、2、4、8、12 和 24 小时 ；

[0267] 第 3 天和第 5 天，第一次施用之前 ；

[0268] 第 7 天，第一次施用之前和自最后施用起 1、2、4、8、12、24 和 48 小时 ；

[0269] 测定下面的药代动力学参数 ：利福昔明的最大血浆浓度 (C_{max})，0-24 小时的利福昔明血浆浓度对时间的曲线下面积 (AUC_{0-24h}) 和达到最大血浆浓度的时间 (T_{max})。

[0270] 第 3 天和第 5 天给药前的利福昔明血浆浓度与第 7 天给药前的血浆浓度相当，表明到第 3 天达到利福昔明的稳态血浆浓度。

[0271] 通过装配有质谱仪的 HPLC 分析进行利福昔明的测定。

[0272] 结果报告在表 16 中。

[0273] 表 16

[0274]

	C_{max} (ng/ml)	AUC_{0-24h}	T_{max}
第 1 天，禁食条件下，将利福昔明施用至患有轻度至中度活化克罗恩病的患者 剂量：1200mg	7.8	34.6	1.5
第 7 天，禁食条件下，将利福昔明施用至患有轻度至中度活化克罗恩病的患者 剂量：repente 剂量 1200mg，一天两次	6.1	41.8	3.1

[0275] 由于与所研究药物不相关的 AE，Pt007/007 在第 1 天很早停药；由于重大协议偏差（给药前样本中利福昔明），将 Pt011/010 从分析中排除。

[0276] 实施例 14

[0277] 在患有急性 - 轻度至中度克罗恩病且无任何伴随治疗的患者中，评价肠溶片剂形式的利福昔明的效力

[0278] 在患有中度活化克罗恩病的患者中，测定以 800、1600 和 2400mg/ 天的日剂量施用的根据实施例 2 制备的肠溶片剂形式的利福昔明的效力，所述患者在治疗前 3 个月内和用利福昔明治疗期间，不接受任何伴随治疗，例如免疫抑制剂和 / 或 5- 氨基水杨酸盐 (5-aminosalycilates)。

[0279] 将患者分成四组，其中：

[0280] A 组：用根据实施例 2 制备的一片 400mg 利福昔明片剂治疗，一天施用两次，等于 800mg/ 天的总剂量；

[0281] B 组：用根据实施例 2 制备的两片 400mg 利福昔明肠溶片剂治疗，一天施用两次，等于 1600mg/ 天的总剂量；

[0282] C 组：用根据实施例 2 制备的三片 400mg 利福昔明肠溶片剂治疗，一天施用两次，等于 2400mg/ 天的总剂量；

[0283] D 组：仅用安慰剂治疗。

[0284] 将结果报告在表 17 中。

[0285] 表 17

[0286]

	安慰剂	利福昔明(实施例 2 的片剂) 800 mg /天	利福昔明(实施例 2 的片剂) 1600 mg /天	利福昔明(实施例 2 的片剂) 2400 mg/天
N	8/27	13/27	17/28	18/34
%	29.6	48.1	60.7	52.9
P	-	0.1628	0.0206	0.0674

[0287] 实施例 15

[0288] 通过 Comet 测试评价利福昔明治疗对粪便水遗传毒性和 DNA 损伤的作用

[0289] 通过 Comet 测试评价利福昔明治疗对粪便水遗传毒性和 DNA 损伤的作用，单链断裂单细胞凝聚电泳测试（Comet 测试）是检测 DNA 损伤的灵敏技术。其涉及低熔点琼脂糖混悬液中细胞的包封、中性或碱性条件下细胞的溶解和混悬的溶解细胞的凝胶电泳。随后是用 DNA 染色的可视分析和计算荧光，以测定 DNA 损伤的程度。

[0290] 将 11 个患有活化克罗恩病、具有 150-400 间的 CDAI 的患者用根据实施例 2 制备的 800mg 利福昔明片剂治疗，一天三次，相应于 2400mg/ 天的利福昔明总量，治疗 7 天。

[0291] 利福昔明治疗之前和利福昔明治疗之后，从患者收集粪便样品，并提取粪便水。

[0292] 将大鼠永生化成纤维细胞以 1 重量 % 浓度暴露于粪便水样品，所述粪便水样品是在用利福昔明 7 天治疗之前和之后收集的。

[0293] 简言之，在粪便水样品 (1%) 存在下，将 MEM 中的细胞混悬液 (1.0×10^5 个细胞 /100μl) 在 Eppendorf 管中于 37° C 下培育 30min。然后，将细胞转移到冰上，并在培育之前和培育之后，通过锥虫蓝 (trypan blue) 排除评价存活力。将用 100mM H_2O_2 或 PBS 处理分别用作阳性和阴性对照。将细胞在 4° C 下于 100g 离心 5min，除去上清液并将细胞再悬浮于低熔琼脂糖中 (1.0×104 个细胞 /100μl 10.5% 低熔琼脂糖的 PBS 溶液），并立即转移至琼脂糖包被的载玻片上 (1.5%，在含 5mM EDTA 的 PBS 中）。然后，将细胞用一层琼脂糖 (0.5% 的 PBS 溶液）覆盖，并让其迅速固化。在 4° C 下，将载玻片浸于冰冷的溶解液中 (2.5M NaCl，100mM EDTA，10mM Tris，1% 肌酰胺 (Sarkosyl)，10% 二甲基亚砜和 1%Triton X-100(pH10.0))，保持 60min。然后，将其置于具有碱性缓冲液 (0.3N NaOH，1mM EDTA) 的电泳盘上，并让其在室温平衡 20min，然后在 300mA 下，于相同缓冲液中进行电泳，持续 20min。然后，冲洗载玻片，将其用 2mg/ml 溴乙锭 (EB) 染色 5min，并用荧光显微镜 Eclipse E600（尼康公司，东京，日本）分析。用连接计算机的照相机得到影像，并利用软件 Image-Pro Plus4.1 分析。这还用于测定核遗传物质迁移或者 comet 的“头部”和得到的“尾部”之间的关系。将 DNA 损失表示为“尾距 (tail moment)”，其考虑尾部存在的 DNA 的量和遗传物质迁移的程度（尾部长度）。将尾距定义为 :TM=I*L，其中 I 是 comet 尾部的 DNA 的部分 (fractional) 量，且 L 是从 comet 头部中心至尾部末端的 comet 尾部的全程。将用 PBS 的阴性对照的尾距值设定为 100。将所有实验一式三份地进行，并将结果表示为与阴性对照相比的 %±SD。阳性对照 (100mM 过氧化氢）值是 420±92，并在表 1 中报告各个数据。

[0294] 在 7 个患者（患者编号 1、2、3、4、6、10) 中，用利福昔明治疗后，观察到粪便水引起的 DNA 单链断裂显著降低。患者 5 和 11 中未观察到差异，因为治疗前未观察到遗传毒性（起始值与阴性对照相似），并且在其他两个患者 (8,9) 中，利福昔明未引起粪便水引起的 DNA 单链断裂的任何降低 :在第 0 天和第 7 天，治疗结束，值是高的。

[0295] 表 18

[0296] 使用利福昔明的 7 天治疗之前和之后收集的粪便水样品引起的 DNA 单链断裂的评价

[0297] 阴性对照 100

[0298] 阳性对照 (100 mM 过氧化氢）420±92

[0299]

患者	第 0 天	第 7 天
1	280±52	120±30
2	360±68	147±42
3	260±66	126±24
4	240±34	124±38
5	122±26	120±28
6	248±52	154±56
8	268±47	300±64
9	306±42	347±54
10	264±46	146±44
11	130±56	132±26