



(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 I624260 B

(45) 公告日：中華民國 107 (2018) 年 05 月 21 日

(21) 申請案號：102121395 (22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 17 日

(51) Int. Cl. : A61K31/455 (2006.01) A61P1/00 (2006.01)

(30) 優先權：2012/06/15 德國 10 2012 011 890.2

(71) 申請人：德商柯納里尼研究所公司 (德國) CONARIS RESEARCH INSTITUTE AG (DE)  
德國

(72) 發明人：維茲格格瑞 WAETZIG, GEORG (DE)；希爵特狄克 SEEGERT, DIRK (DE)

(74) 代理人：蔡坤財；李世章

(56) 參考文獻：

WO 97/29760A1

WO 2009/131537A1

認識維生素 B3 之功能，營養學常識，89.01.1.，<https://www.dharmazen.org/X1Chinese/D32Health/H208VitB3.htm>

審查人員：蔡明秀

申請專利範圍項數：16 項 圖式數：7 共 44 頁

(54) 名稱

含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸及／或菸鹼醯胺及／或色胺酸的藥學組合物

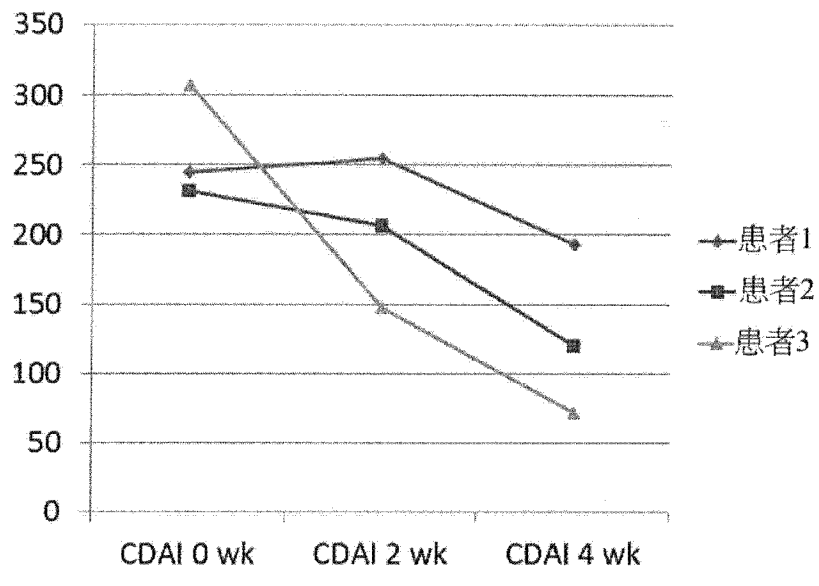
A PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING NICOTINIC ACID AND/OR  
NICOTINAMIDE AND/OR TRYPTOPHAN FOR POSITIVELY INFLUENCING THE INTESTINAL  
MICROBIOTA

(57) 摘要

本發明係關於一種含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸、菸鹼醯胺、色胺酸或相關化合物的新的藥學組合物。在某些實施例中，該藥學組合物部分或全部釋放在小腸或大腸內。

The present invention relates to a new pharmaceutical composition containing nicotinic acid, nicotinamide, tryptophan or related compounds for positively influencing the intestinal microbiota. In certain embodiments, the pharmaceutical composition is partially or entirely released into the small intestine or large intestine.

指定代表圖：



第2圖

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸的藥學組合物

A PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING NICOTINIC ACID AND/OR NICOTINAMIDE AND/OR TRYPTOPHAN FOR POSITIVELY INFLUENCING THE INTESTINAL MICROBIOTA

## 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸的新的藥學組合物，其中該藥學組合物特定地釋放（例如，選擇性釋放）在小腸及/或大腸內。

## 【先前技術】

【0002】 腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動引起或影響腸壁的許多發炎性疾病。此類腸炎發生於人類中，例如，發炎性腸病(inflammatory bowel diseases; IBD)，諸如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎，但亦發生於其他哺乳動物中（例如，犬類的慢性自發性結腸炎）。此等疾病基於複雜的免疫過程，該等免疫過程尚未被完全理解。然而，腸道微生物相的變化及腸道微生物相之異常的互動亦可為眾多其他疾病的發病因素。實例包括異位性疾病，諸如異位性濕疹、過敏癥狀或哮喘（參看例如：Bisgaard 等人，2011，J. Allergy Clin. Immunol. 128:646；Iebba 等人，2011，Dig. Dis. 29:531；Abrahamsson 等人，2012，J. Allergy Clin. Immunol.

129:434; Candela 等人, 2012, BMC Microbiol. 12:95; Olszak 等人, 2012, Science 336:489), 以及具有發炎組分的代謝病, 諸如導致冠心病的動脈硬化、肥胖症或糖尿病 (Ott 等人, 2006, Circulation 113:929; Koren 等人, 2011, PNAS 108 Suppl 1:4592; 綜述參看 Caesar 等人, 2010, J. Intern. Med. 268:320; 以及 Vrise 等人, 2010, Diabetologia 53:606)。

**【0003】** 儘管腸道微生物相與各種疾病之間的關係為已知的, 但是尚未理解如何以一種將正向影響關聯性疾病之方式影響微生物相。

**【0004】** 數十年來已經使用菸鹼酸 (菸酸、維他命 B3)、菸鹼醯胺 (nicotinic acid amide; nicotinamide) 及/或 L-色胺酸治療菸鹼缺乏病 (例如, 糙皮病)。眾所周知, 糙皮病可伴隨腸炎, 腸炎在給與菸酸之後得以改善, 在此處治療原理為消除引起腸炎之維他命缺乏症 (Segal 等人, 1986, Int. J. Colorectal Dis. 1:238; 以及 Clayton 等人, 1991, Eur. J. Pediatr. 150:498)。

**【0005】** 亦眾所周知, 菸鹼酸對血液中的膽固醇脂蛋白具有促進健康的效果 (HDL/LDL 比率及 LDL 囊泡之尺寸; Wahlberg 等人, 1990, J. Intern. Med. 228:151; Seed 等人, 1993, Atherosclerosis 101:61; Elam 等人, 2000, JAMA 284:1263; McKenney 等人, 2001, Am. J. Cardiol. 88:270)。

### **【發明內容】**

**【0006】** 本發明之目標在於針對人類及動物中與腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動相關聯的

**【圖式簡單說明】**

**【0010】** 第 1 圖圖示藉由菸鹼醯胺或色胺酸防止 ACE2 缺乏的小鼠中 DSS 結腸炎之加重。頂行：結腸之組織病理學（在 DSS 給藥後第 10 天蘇木精伊紅染色；條：100  $\mu\text{m}$ (a)），重量損失百分比(b)及受 DSS 攻擊之 ACE2 正常(ACE2+/y)小鼠與 ACE2 缺乏(ACE2-/y)小鼠之腹瀉計分(c)，在飲用水中提供載劑或菸鹼醯胺(NAM)給小鼠。在 DSS 給藥之前的 3 天開始 NAM 給藥。底行：結腸之組織病理學（在 DSS 攻擊後第 7 天蘇木精伊紅染色；條：100  $\mu\text{m}$ (d)），重量損失百分比(e)及在受 DSS 攻擊之 ACE2 正常(ACE2+/y)小鼠與 ACE2 缺乏(ACE2-/y)小鼠中結腸腺窩之損傷(f)，小鼠接收正常飼料（對照）或色胺酸二肽飼料(Trp+)。

**【0011】** 所有值為平均值，具有每一群組 3 至 10 只小鼠之標準誤差。

**【0012】** \*:P<0.05；\*\*或##:P<0.01。

**【0013】** 第 2 圖圖示三個病人自第 0 周(wk)至第 4 周在給與菸鹼醯胺（每日 2x600 mg）的同時克羅恩氏病活性指數(Crohn's disease activity index; CDAI)之發展。

**【0014】** 第 3 圖圖示小鼠結腸黏膜之組織學計分，小鼠受葡聚糖硫酸鈉(dextrane sodium sulfate; DSS)結腸炎攻擊及利用用水胃管灌食之菸鹼醯胺(NAM)或混合於飼料中的 NAM 之控制釋放小錠劑調配物或胃管灌食在 0.5%之甲基纖維素中作為懸浮液的 5-胺基水楊酸來治療該等小鼠。

**【0015】** 第 4 圖圖示小鼠之疾病活性指數(disease activity 5

index; DAI)資料，小鼠受葡聚糖硫酸鈉(DSS)結腸炎攻擊及利用以下藥物治療：(1)用水胃管灌食之菸鹼醯胺(NAM)；或(2)混合於飼料中的對照顆粒；或(3)以三個劑量混合於飼料中的 NAM 之控制釋放顆粒調配物；或(4)混合於飼料中的 5-胺基水楊酸之控制釋放顆粒調配物(5-ASA 顆粒)。\*相較於對照顆粒  $p<0.05$ ；\*\*，相較於對照顆粒  $p<0.01$ ；\*\*\*，相較於對照顆粒  $p<0.001$ ；###，相較於水中 NAM 之相同劑量  $p<0.001$ 。

**【0016】** 第 5 圖圖示來自小鼠之結腸組織勻漿之髓過氧化物酶(myeloperoxidase; MPO)含量，小鼠受葡聚糖硫酸鈉(DSS)結腸炎攻擊及利用以下藥物治療：(1)用水胃管灌食之菸鹼醯胺(NAM)；或(2)混合於飼料中的對照顆粒；或(3)以三個劑量混合於飼料中的 NAM 之控制釋放顆粒調配物；或(4)混合於飼料中的 5-胺基水楊酸之控制釋放顆粒調配物(5-ASA 顆粒)。\*，相較於對照顆粒  $p<0.05$ ；\*\*\*，相較於對照顆粒  $p<0.001$ 。

**【0017】** 第 6 圖圖示在飼料缺乏色胺酸、菸鹼酸或菸鹼醯胺(無 Trp/Nia/NAM 飼料)的之前及之後 12 天裡每一群組 5 只至 8 只小鼠之糞便樣本中主要細菌擬桿菌門及厚壁菌門之相對含量。無 Trp/Nia/NAM 飼料含有(1)無 NAM 或 5-胺基水楊酸(5-ASA)的對照顆粒、(2)以三個劑量混合於飼料中的 NAM 之控制釋放顆粒調配物或(3)混合於飼料中的 5-胺基水楊酸之控制釋放顆粒調配物(5-ASA 顆粒)。

**【0018】** 第 7 圖圖示在飼料缺乏色胺酸、菸鹼酸或菸鹼醯胺(無 Trp/Nia/NAM 飼料)的之前及之後 12 天裡每一群組 5 只至

8 只小鼠之糞便樣本中微生物相組合物之相似百分比分析 (similarity percentage analyses; SIMPER)。無 Trp/Nia/NAM 飼料含有(1)無 NAM 或 5-胺基水楊酸(5-ASA)的對照顆粒或(2)以三個劑量混合於飼料中的 NAM 之控制釋放顆粒調配物或(3)混合於飼料中的 5-胺基水楊酸之控制釋放顆粒調配物(5-ASA 顆粒)。藉由柱狀物之陰影線部分形象化未分類擬桿菌目及擬桿菌目帕拉普氏菌屬(Paraprevotella)之擴充。

### 【實施方式】

【0019】 本發明之核心為一種藥學組合物，該藥學組合物包含：選自以下物質中的一種、兩種或兩種以上活性物質：菸鹼酸；菸鹼醯胺；色胺酸；在動物體內（例如，人體）轉換成菸鹼酸、菸鹼醯胺或色胺酸之化合物；菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide; NAD)；菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADP)；NAD 或 NADP 之生物合成中的中間物；以及色胺酸二肽，以上物質用於正向影響腸道微生物相，其中將該藥學組合物設計成延遲釋放型，以便在低位小腸、結腸或兩者內釋放（例如，部分釋放、選擇性釋放）該組合物。

【0020】 發明者已認識到，菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸藉由影響腸道微生物相（腸道內所有微生物整體，詳言之，細菌）而具有抗炎效果，因為該等物質改變了腸道內抗菌肽之分泌模式。在給與根據本發明之藥學組合物後，經改變之腸道微生物相具有較少的促發炎症效果或為抗炎的，因此引起及/或幫助諸如克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎之 IBD 的症狀在

人類中或其他哺乳動物中（例如，犬類中的慢性自發性結腸炎）明顯減輕。此外，已在本文中首次證明，在胃腸道之受影響區域中釋放至少一部分該藥學組合物的活性物質之藥學組合物比在到達受影響區域前被大量吸收之藥學組合物具有明顯更好的療效。

**【0021】** 因此，如本文所使用，「正向影響腸道微生物相」係指引起腸道微生物相的變化，該變化對健康，詳言之，對本文所描述之一或更多個疾病及癥狀，具有正向影響。舉例而言，與正向影響相關聯的是：減少病原菌之數目、減小病原菌與有益菌之比率、增加微生物相之多樣性、減少腸道內微生物相引發的炎症量及在微生物相之腸道類型（例如，與擬桿菌屬、普氏菌屬及瘤胃球菌屬相關聯的腸道類型）中部分或完全還原病變。在發炎性腸病中通常視為病原之細菌包括（例如）具有侵襲性質或毒力因素的腸桿菌科（例如，大腸桿菌）、產生硫化物的脫硫弧菌屬(*Desulfovibrio* spp.)及具有侵襲性質的細梭菌屬(*Fusobacterium* spp.)。通常視為有益之細菌包括乳桿菌屬 (*Lactobacillus*)、雙叉桿菌屬 (*Bifidobacterium*)及普拉梭菌屬(*Faecalibacterium*)中的種類，諸如乳桿菌(*L. casei*)、植物乳桿菌(*L. plantarum*)及普拉梭菌(*F. prausnitzii*)。有關發炎性腸病中的消化道微生物相之最近綜述，請參看 Manichanh 等人，2012，*Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 9:599。

**【0022】** Hashimoto 等人於此申請案之優先權日後發表論文 (*Nature* 2012, 487:477)及該論文之內容以引用之方式併入本

文，論文提供關於本文所描述之本發明的額外證據。Hashimoto 等人指出，小鼠中的色胺酸吸收障礙導致由刺激性葡聚糖硫酸鈉(DSS)引起的結腸炎之嚴重程度顯著增加。色胺酸或菸鹼醯胺之飼料補充防止了此結腸炎增長。Hashimoto 等人證明，對重度結腸炎之增加的易感性起因於經改變之消化道微生物組(microbiome)，當移植至其他小鼠時，該經改變之消化道微生物組亦增加接受體中的結腸炎嚴重程度。消化道微生物組中的有害變化經發現係起因於某些抗菌肽(antimicrobial peptides; AMPs)的量劇烈減少，詳言之， $\alpha$ -防衛素，主要藉由由色胺酸或菸鹼醯胺引起的 mTOR 訊號傳遞控制該  $\alpha$ -防衛素在終端迴腸之上皮細胞內的表達。

【0023】 因為慢性腸炎明顯地增加了發展成為結腸癌之風險（有關綜述請參看例如，Ullman & Itzkowitz，2011，*Gastroenterology* 140:1807），所以根據本發明之組合物之用途亦在慢性或反復性腸炎的情況下預防結腸癌。

【0024】 已顯示，由正常消化道微生物相確立或重新確立或者由有益細菌補充的治療性介入在多變疾病模型中及在各別人類疾病中係有效的。舉例而言，Olszak 等人(*Science* 2012，336:489)最近證明，可藉由拓殖(colonising)具有正常微生物相的新生小鼠防止 IBD 或哮喘之無菌鼠類模型的患病器官中無變化自然殺傷 T 細胞之病理累積。在不同疾病中，研究已證明某些益生元、益生菌或合生素之有益效應。舉例而言，乳桿菌屬可降低肥胖癥中的血液膽固醇水準，但是該機制仍未完全清楚（由 Caesar 等人，2010，*J. Intern. Med.* 268:320 綜

述)。在發炎性腸病中，一些益生菌如 VSL#3 (短雙叉桿菌 (*Bifidobacterium breve*)、長雙叉桿菌 (*Bifidobacterium infantis*)、嬰兒雙叉桿菌 (*Bifidobacterium infantis*)、嗜酸乳桿菌 (*Lactobacillus acidophilus*)、植物乳桿菌 (*Lactobacillus plantarum*)、副乾酪乳桿菌 (*Lactobacillus paracasei*)、德氏乳桿菌保加利亞亞種 (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) 及嗜熱鏈球菌 (*Streptococcus thermophilus*) 之混合物) 已經成功用於有限的臨床研究中。通常似乎需要補充至少若干種細菌之菌株來提供顯著的治療性效益。複雜細菌介入之驚人療效之最近實例係成功使用糞便移植對抗難養芽胞梭菌 (*Clostridium difficile*) (van Nood 等人, 2013, *New Engl. J. Med.* 368:407)。

**【0025】** 因為腸道微生物相中的病理變化亦可導致發自異位性病癥的眾多其他疾病以及具有發炎組分的代謝病，所以該等疾病的治療及/或預防亦在本發明之範疇內。詳言之，以下疾病係針對該等適應症之實例：

- 皮膚：過敏症、異位性濕疹、牛皮癬；
- 肺：囊腫性纖維化、哮喘、COPD；
- 血管：冠心病、動脈硬化、動脈粥樣硬化；
- 內分泌系統：糖尿病、肥胖症。

**【0026】** 用於局部影響腸黏膜與腸道微生物相、腸炎及腸黏膜之直接治療的菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸 (及相關活性物質) 之本發明特定性、局部性使用由本文所描述之見解引起該等化合物之此前未知及出乎意料的作用。此用法明顯

不同於活性物質之習知用法，在此用法中吸收該等物質且認為該等物質將產生系統作用。考慮到該等物質的新抗炎效果及/或修正腸道微生物相的效果，因此菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸（及本文所描述之其他化合物）適宜作為活性物質，用於治療小腸及/或大腸之發炎性疾病。特定癥狀包括腸炎之治療、結腸癌之預防及由腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動引起的其他疾病之治療或預防。較佳地，在藥理學調配物中使用該等活性物質，從而保護活性物質之最大可能量避免在高位小腸內被身體吸收及確切而言實現在終端迴腸或結腸內待修正之腸道微生物相所在位置（例如，在終端迴腸及/或結腸內選擇性地釋放活性物質）的釋放（例如，控制釋放及/或延遲釋放）。

**【0027】** 詳言之，因此，適合在具有局部釋放（例如，控制及/或延遲釋放）的藥劑中使用本文所描述之活性物質，用於治療克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、結腸袋炎、大腸之進一步慢性疾病或大腸炎症、改道性結腸炎、傳染性腸炎、諸如難養芽胞梭菌(*C. difficile*)關聯性腹瀉之抗生素關聯性腹瀉、傳染性結腸炎、憩室炎及由輻射、抗生素、化學治療劑、醫藥產品或化學品形成的炎症，以及用於結腸癌之預防及用於由腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動引起的其他疾病之治療或預防。

**【0028】** 所主張之物質對於人類及其他哺乳動物（詳言之家畜及有用動物）兩者中具有類似起源的疾病之治療或預防係同等可用的。該等動物之實例為犬、貓、馬、駱駝或奶牛，

並無對象限制。

【0029】 可使用市場上出售的任何形式之活性物質（亦即，菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸），例如，由 Merck KgaA 生產之活性物質。可作為單胺基酸或二肽（例如，作為 Gly-Trp 二肽）使用色胺酸。

【0030】 除菸鹼酸、菸鹼醯胺及色胺酸之外，在本文所描述之本發明中可使用其他相關化合物作為活性物質。舉例而言，在人類或動物體內轉換成該等藥劑中之一種藥劑的化合物（例如，藉由水解、新陳代謝）係適宜的，諸如菸鹼酸酯。另外，可使用煙醯胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)或磷酸 NAD 酯(NADP)之合成中的中間物，諸如 N-甲醯犬尿氨酸(N-formylkynurenine)、L-犬尿氨酸(L-kynurenine)、3-羥-L-犬尿氨酸(3-hydroxy-L-kynurenine)、3-羥鄰氨苯甲酸(3-hydroxyanthranilate)、2-氨基-3-羧基黏康酸半醛(2-amino-3-carboxymuconate semialdehyde)、喹啉酸酯(quinolinate)及  $\beta$ -菸鹼酸 D-核糖核苷酸(beta-nicotinate D-ribonucleotide)。進一步實例包括 NAD 及 NADP。

【0031】 可利用經延遲之活性物質釋放來口服給藥或亦經由直腸模式應用（例如，灌腸劑或栓劑）給與含有菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸（或上文所描述之其他物質中之一種物質）的藥學組合物。活性物質之輸送位置較佳地為小腸之低位元部分及/或結腸，用於抑制發炎過程，及因此該等位置與追求有機體內的最大吸收及新陳代謝及從而追求全身效果的應用（例如，用於治療糙皮病）模式基本不同。另外，根據

5

本發明之給藥模式及根據本發明之劑量最小化副作用出現的概率，（例如）如所描述的與菸鹼酸之全身給藥有關之副作用。

【0032】 如本文所使用，「低位小腸(lower small intestine)」為小腸之後半段及「終端迴腸(terminal ileum)」為迴腸之後半段。

【0033】 就此而言，本發明亦包含組合製劑，諸如菸鹼酸及/或菸鹼醯胺與乙醯水楊酸及/或前列腺素 D2 拮抗劑（諸如拉羅皮蘭(laropiprant)）之組合，該組合減少了菸鹼酸之典型副作用。該等組合之組合物及劑量為熟習此項技術者所知。另外，根據本發明較佳地使用菸鹼醯胺代替菸鹼酸最小化副作用出現之概率。

【0034】 為了產生對終端迴腸及/或結腸內的腸道微生物相具有抗炎及/或修正效果的活性物質之口服給藥調配物，因此將有利及創新地使用控制及/或延遲釋放模式。與用於最佳補充的釋放之習知（在一些情況下亦延遲）模式（例如，在糙皮病的情況下）對比，本發明之某些實施例部分或實質上避免在胃及小腸之高位部分吸收。

【0035】 為了治療克羅恩氏病或潰瘍性結腸炎，口服及/或直腸模式（例如，作為灌腸劑）應用係適宜的。為了在潰瘍性結腸炎的情況下治療結腸袋炎，直腸應用（例如，作為灌腸劑）較佳。亦可藉由如上所述的口服調配物之口服給藥支持治療，例如，延遲釋放製劑。針對結腸炎之任何其他形式之症狀治療，可選擇口服及直腸應用兩者用於腸道微生物相之

治療性修正。口服應用對於結腸癌之預防（詳言之在潰瘍性結腸炎的情況下）及對於部分或實質上由腸道微生物相內的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動引起的其他疾病之治療或預防較佳。

**【0036】** 針對口服給藥，由特殊蓋侖製劑(galenics)（所謂的控制釋放、緩慢釋放或延遲釋放形式）控制及/或延遲活性物質釋放的特定劑型尤為適宜。此等劑型可為簡單錠劑且亦可為包衣錠劑，例如，薄膜錠劑或糖衣錠劑。錠劑通常係圓形或雙凸面。亦可能為允許錠劑分離之長橢圓形錠劑形式。另外，可能為顆粒、球狀體、小球狀或微膠囊，在適宜的情況下，藥囊或膠囊內填充該等劑型。

**【0037】** 術語「延遲釋放(delayed release)」較佳地係指在延遲一段時間後釋放活性成分之藥學調配物。在某些實施例中，該延遲足以使得調配物中的至少一部分活性物質在低位小腸（例如，終端迴腸）及/或結腸內釋放。

**【0038】** 術語「控制釋放(controlled release)」較佳地係指在延長時段後釋放或輸送一或更多種活性成分之藥學調配物或藥學調配物之組分。在某些實施例中，該時段足以使得調配物中的至少一部分活性物質在低位小腸（例如，終端迴腸）及/或結腸內釋放。

**【0039】** 例如，藉由抵抗胃液及取決於 pH 分解的包衣，藉由微纖維素及/或多基質(MMX)技術，藉由使用不同的載體基質或該等技術之組合有利地實現此延遲。實例包括在各種混合物內含有丙烯酸及/或甲基丙烯酸酯聚合物的薄膜包衣，用

於控制及/或延遲釋放。舉例而言，可在由材料包覆的習知微晶纖維素基質或明膠中或利用 MMX 技術含有一或更多種活性物質，此舉提供一或更多種活性物質之延遲釋放。較佳情況為，在大體積膠囊內（例如，具有 0.68 ml 含量的明膠）引入活性物質，該等膠囊藉由已知方法包覆。適宜包覆劑為水不可溶性蠟及聚合物，諸如聚甲基丙烯酸酯（例如，Evonik Industries AG (Essen, 德國)商品名稱為 Eudragit<sup>®</sup>的產品系列，詳言之，Eudragit<sup>®</sup> S 及 Eudragit<sup>®</sup> L）及水不可溶性纖維素（例如，甲基纖維素、乙基纖維素）。在適宜情況下，包覆材料中亦可含有水溶性聚合物（例如，聚乙烯吡咯啉酮）、水溶性纖維素（例如，羥丙基甲基纖維素或羥丙基纖維素）、聚山梨醇酯 80、聚乙二醇 (polyethylene glycol; PEG)、乳糖或甘露糖醇。

**【0040】** 舉例而言，Eudragit<sup>®</sup> S 及 L 化合物之組合（例如，Eudragit<sup>®</sup> L/S 100）實現發生於終端迴腸的 pH>6.4 下根據本發明之活性物質的控制釋放。Eudragit<sup>®</sup>製劑及製劑之混合物（L、S 及 R 化合物）的進一步使用亦可能用於活性物質之包裝及因此在整個胃腸道之選定部分內的局部使用可在某些 pH 值處藉由控制釋放實現。

**【0041】** 藥學組合物亦可含有進一步藥學賦形劑物質，諸如黏合劑、填充劑、助流劑、潤滑劑及流量調節劑。在適宜情況下，可與進一步的活性物質及藥學組合物中習知的賦形劑一起調配根據本發明之化合物，該等賦形劑例如，滑石、阿拉伯膠、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、可哥脂、含水及無水載體、

動物或植物源之脂質組分、石蠟衍生物、乙二醇（詳言之，聚乙二醇）、各種增塑劑、分散劑、乳化劑及/或防腐劑。

【0042】 爲了產生灌腸劑或栓劑用於直腸應用，活性物質之製劑可溶於適宜溶劑中及可根據已知藥學方法進一步處理成灌腸劑或栓劑。

【0043】 在口服給藥的情況下，成品劑型裡的活性物質含量爲 1 mg 至 3000 mg，較佳爲 100 mg 至 1000 mg；灌腸劑及/或栓劑可含有的活性物質含量爲 10 mg 至 5000 mg。取決於發炎性疾病之強度及嚴重度，每日給藥劑型一次或若干次或執行由醫師選擇的另一給藥方案。

【0044】 如本文所使用，術語「治療(treatment)」、「治療(treat)」及「治療(treating)」係指扭轉、減輕、延遲疾病或病癥或其一或更多個症狀之發作，或者防止疾病或病癥或其一或更多個症狀之發展，如本文所描述。在一些實施例中，在已經發展一或更多個症狀後可給藥治療。在其他實施例中，在無症狀的情況下可給藥治療。舉例而言，在症狀發作前可對易感性的個體給藥治療（例如，根據症狀歷史及/或根據遺傳或其他易感性因素）。在症狀已經消除後亦可繼續治療，例如以防止或延遲該等症狀的復發。

【0045】 如本文所使用，術語「預防(prophylaxis)」及「防止(prevent)」係指與未經治療之控制族群相比較，延遲發展成疾病或病癥或疾病或病癥之一或更多個症狀之發作或減小發展成疾病或病癥或其一或更多個症狀之可能性。

【0046】 本文所描述之本發明之另一態樣爲基於遺傳及/或

微生物資料及待受治療之個體的特定需要有效地利用所主張之藥劑。對針對所有疾病類型的個體之遺傳素質（尤其亦為腸道微生物相與腸道之間的互動受損之疾病）及對藥物遺傳學的新見解指示基於證據的個別化醫藥可關於本文所描述之藥劑之使用類型、應用模式、使用時間、劑量及/或給藥方案提供資訊及改良，該個別化醫學包括相關風險基因之遺傳分析及亦包括遺傳密碼（例如，針對細胞表面受體、轉運蛋白質、代謝酶或訊號轉導蛋白質）與藥劑及/或藥劑代謝物及/或藥劑下游效應物互動的基因之遺傳分析。可得益於此個別化治療的個體包括彼等具有減少的血清色胺酸、經改變之 B<sup>0</sup>AT1 之表達（例如，在腸道上皮細胞內）及 B<sup>0</sup>AT1 多型性。此情況類似地應用於腸道微生物相之分析，詳言之當糞便樣本指示微生物相的變化的時候。因此，本發明亦包含適宜遺傳及/或微生物檢驗方法之使用，以識別對根據本發明之藥劑尤為敏感的個體及/或以針對個體情況調適根據本發明之藥劑之使用。此亦明確地包含取決於個體之遺傳及微生物特性在不同給藥模式中不同物質（菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸）之使用。為了該等目的，可能使用實驗室檢驗及/或適宜檢驗工具箱，及亦可能使用由醫師、使用者及/或患者使用的量測方法、裝置及/或工具箱，例如，以獲取糞便樣本或以分析血液、尿液或其他體液中的適宜參數。

**【0047】** 實例

**【0048】** 存在可變可能性以有利地發展及進一步發展本發明之教示。出於此目的，參考以代表性方式描述本發明之以下 5

實例。

**【0049】 實例 1：**

**【0050】** 自從 Hashimoto 等人(Nature 2012, 487:477)發表以來，在提交優先權申請案時未發表之新的發現支持本發明之教示且出於說明之目的在此處簡要描述：眾所周知，針對腸道上皮細胞之表面上中性胺基酸  $B^0AT1$ （轉運色胺酸）的轉運體之表達受限於血管收縮素轉化酶 2 的存在(angiotensin converting enzyme 2; ACE2)（Kowalczyk 等人，2008，FASEB J. 22:2880；Camargo 等人，2009，Gastroenterology 136:872）。缺陷 ACE2 導致胺基酸缺乏症（所謂的哈特納普氏病(Hartnup disease)），胺基酸缺乏症的疾病模式類似於糙皮病且可藉由增加供應色胺酸及菸鹼醯胺治療該缺乏症。小鼠模型現已顯示，當給與物質葡聚糖硫酸鈉(DSS)時，無功能性 ACE2（基因型：Ace2-/*y*）的小鼠患有人工引起的腸炎實質上比具有正常基因型(Ace2+/*y*)的小鼠更嚴重。足夠有趣的是，可能藉由預防藥及持續的菸鹼醯胺(NAM)給藥或藉由餵食色胺酸二肽（經由轉運體吸收色胺酸二肽而非經由此處不可用之  $B^0AT1$ ）減小此效應至遺傳正常的小鼠值。在第 1 圖中概述了隨附資料及該等資料在內容方面支援了本發明之發現及主張，以便自小鼠模型之視角在人類及動物中使用。

**【0051】 實例 2：**

**【0052】** 爲了分析給與菸鹼醯胺時腸道微生物相的變化，根據先前技術從糞便樣本中分離基因組 DNA 及量化基因組 DNA，以及放大細菌 16-S-rRNA 基因之可變區域，其中出於

5

識別之目的擴增子(amplicons)具有適宜標記。遵循擴增子之高產量焦磷酸測序，所有獲得之序列經受品質控制及藉由與細菌 DNA 序列之經分節 (curated) 的資料庫進行多級序列比較來分析。利用所觀察及所量測的疾病症狀及個體之相關遺傳因素關聯及評估經治療個體及未經治療個體之糞便樣本中的腸道微生物相之所獲得代表性橫截面部分之差異。

**【0053】** 第 2 圖圖示三位患者之克羅恩氏病活性指數(CDAI) (亦即，根據公認標準由不同疾病參數計算該病的活性) 之發展，三位患者患有克羅恩氏病及利用習知調配的高劑量菸鹼醯胺治療 4 周 (每日 2x600 mg)。CDAI 值 <150 相當於病症緩解。所有三位患有克羅恩氏病的患者顯示出對菸鹼醯胺給藥的明確回應，三位患者中的兩位在治療週期內實現了病症緩解。

**【0054】** 回應於此實例中所見的菸鹼醯胺補充，由 Hashimoto 等人於 2012 年 (Nature 487:477) 所描述的針對鼠類結腸炎模型 (參看實例 1) 的菸鹼醯胺之基本機制及有益效應與人類克羅恩氏病患者之臨床改良相匹配。

**【0055】 實例 3:**

**【0056】** 結果令人驚訝的是，儘管患有克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎患者之腸道黏膜內的 ACE2 表達與健康個體的值 (資料未顯示) 並沒有顯著不同，但是黏膜之發炎部分內的 B<sup>0</sup>AT1 表達減少極為明顯且以統計學上顯著之方式減小 (P 值 < 0.05) (參見表 1)。另外，來自患有不同成因之腸炎患者的對照樣本 (所謂的疾病特異性對照) 顯示與住院正常人 (HN) 沒有明

S

顯偏差。此點反對通用、非特定缺乏症或胺基酸缺乏及贊成 IBD 之治療中菸鹼酸、菸鹼醯胺及/或色胺酸（及相關化合物）之特定效果，在本發明中將重新觀察到該等效果。

**【0057】**

	克羅恩氏病		潰瘍性結腸炎		所有 IBD 樣本	所有發炎 IBD 樣本	所有未發炎 IBD 樣本	其他腸病之發炎樣本	其他腸病之未發炎樣本
	已發炎	未發炎	已發炎	未發炎					
相對於 HN 之偏差	-8.77	-1.55	-31.02	-2.15	-5.44	-18.43	-1.92	-1.52	-1.01
P 值	0.0002	0.2772	0.0000	0.0207	0.0000	0.0000	0.0485	0.1093	0.3632

**表 1：**相對於基值（來自住院正常對照之樣本 HN，亦即無腸炎的患者）的 B<sup>0</sup>AT1 之 mRNA 表達

**【0058】** 在此實例中所觀察到的 IBD 患者中所觀察之色胺酸轉運體缺乏對應於因色胺酸轉運體缺乏而具有加重結腸炎之小鼠中的情況（Hashimoto 等人，2012, Nature 487:477；參看實例 1）。

**【0059】 實例 4：**

**【0060】** 爲了特徵化用於對腸道上皮目標輸送菸鹼醯胺的控制釋放調配物之優點，在小鼠中的葡聚糖硫酸鈉(DSS)結腸炎模型中實行概念證明型研究。DSS 結腸炎爲標準化結腸炎模型，該模型針對人類發炎性腸病的候選藥物療效評估。作爲在 DSS 結腸炎中通常有效的治療控制，使用 5-胺基水楊酸(5-ASA)。5-ASA 在生理 pH 下幾乎不可溶及因此在 0.5%之甲基纖維素中將 5-ASA 作爲懸浮液給與。

【0061】 由於胃腸道在長度、通過時間及 pH 環境方面存在特定於物種的差異，控制釋放調配物適合於待經治療之有機體。根據鼠類胃腸道之參數( Koopman 等人，1978，*Lab. Anim.* 12:223；McConnell 等人，2008，*J. Pharm. Pharmacol.* 60:63 )，產生了用於小鼠中概念證明型研究的特定於鼠類的調配物。

【0062】 與 99%之 NAM 及 1%之硬脂酸鎂(兩者皆購自 Caelo, Hilden, 德國)之粉末混合物一起產生控制釋放小錠劑作為潤滑劑。在混合之後，在粉末流(靜止角； $<35^\circ$ )及粒徑分佈(雷射繞射；主粒子部分：100  $\mu\text{m}$  至 200  $\mu\text{m}$ )方面特徵化粉末以確保良好粉末流。隨後在輪轉壓力機中產生小錠劑及由水不可溶性聚合物 Kollidon SR 30 D(BASF, Ludwigshafen, 德國)之薄膜包覆小錠劑以由 NAM 經由薄膜之擴散控制 NAM 釋放。包衣調配物如下：Kollicoat SR 20 D(49.9%)、單硬脂酸甘油酯 60(0.743%)、丙二醇(0.743%)、氧化鐵紅(0.4%)、聚山梨醇酯 80(0.314%)及任意水 100%。

【0063】 利用一半水加熱單硬脂酸甘油酯 60(Caelo)至  $80^\circ\text{C}$  及利用 Ultraturrax (IKA, Staufen, 德國)乳化單硬脂酸甘油酯 60。隨後，添加及擴散氧化鐵紅(Caelo)額外 5 分鐘(第一組)。在第二組內組合聚山梨醇酯 80(Caelo)、丙二醇(Caelo)及聚合物分散體及利用磁性攪拌器攪拌。來自第一組的冷卻( $<30^\circ\text{C}$ )乳劑與來自第二組的聚合物分散體組合，且添加剩餘水。在過濾( $<500 \mu\text{m}$ )前攪拌分散體 1 小時。在流化床設備(Mycrolab, Hüttlin, Schopfheim, 德國)中以 50 g 批量大小包覆小錠劑，其中液體進料速率約每分鐘 1 ml 及霧化壓力 0.7 巴。噴霧前，

S

由 8 m<sup>3</sup> 之體積流量在 45°C 預加熱錠劑。在噴霧期間，體積流量在 45°C 增至 16 m<sup>3</sup>。觀察到產品溫度約 38°C。在噴霧後，在 45°C 以 16 m<sup>3</sup> 液化錠劑額外 10 分鐘用於固化。在最後製程步驟中，斷開加熱及冷卻錠劑床至 <30°C 以避免黏結。錠劑包覆有 6.2±0.04 mg/cm<sup>2</sup>。根據 Ph. Eur. 以 50 rpm 在攪拌設備 (DT6, Erweka, Heusenstamm, 德國) 中決定藥物釋放。將磷酸鹽緩衝劑 (pH 4) 用作溶解介質，因為預計小鼠中的微酸性胃腸液約為此 pH (McConnell 等人, 2008, J. Pharm. Pharmacol. 60:63-70)。由在 262 nm 的 UV 吸收決定藥物濃度。由於錠劑之極小尺寸及菸鹼醯胺之高水溶性，未包覆的錠劑顯示出即時藥物釋放。使用 Kollidon SR 包衣，最佳化藥物釋放以覆蓋小鼠之小腸內的目的地區域 (至少 15 分鐘延遲時間，恆定藥物釋放 3 小時以上)。將小錠劑與無色胺酸/菸酸的飼料粉末均勻混合，利用最低量無菌水形成近 2 cm 長度及 1 cm 直徑之小球，以單次使用分量在 -20°C 冷凍用於儲存及每日新解凍用於餵食小鼠。

**【0064】** 雄性 C57BL/6J 小鼠 (無特定病原體; Taconic Europe, Ry, 丹麥) 在年齡為 6-7 周及馴化 2 周時被帶入檢驗設備中。在馴化階段期間的飼料為 Altromin 1324，由 Altromin (Lage, 德國) 生產。在馴化 2 周後，飼料改變為無色胺酸或菸鹼酸或菸鹼醯胺的定製飼料 (無 Trp/Nia/NAM 飼料)，該定製飼料由 Ssniff (Soest, 德國) 製造。在飼料改變當日，開始如下文所詳細說明執行治療方案。給與無 Trp/Nia/NAM 飼料及治療兩者，直至小鼠生命終結。在無 Trp/Nia/NAM 飼料 12 天后，小

鼠受飲用水中 1.5%之 DSS(MP Biomedicals, Illkirch,法國)攻擊 4 天及隨後生命終結。

【0065】 利用四個群組（每群組 10 只小鼠）實施治療方案，治療該等小鼠如下：

群組 1：每日口部胃管灌食 0.25 mL 載劑（無菌水）。

群組 2：每日用無菌水（6 mg/mL；最後劑量：約 60 mg/kg 體重）口部胃管灌食 0.25 mL 菸鹼鹽胺(Cat. No. 4488; Caelo) 溶液。

群組 3：控制釋放 NAM 小錠劑均勻分散於飼料中（最後劑量：約 60 mg/kg 體重，基於每只小鼠每日 2.5 g 之食物攝入）。

群組 4：每日口部胃管灌食 0.25 mL 之 5-胺基水楊酸(5-ASA；Cat. No. A3537，Sigma-Aldrich, Brondby,丹麥)，5-胺基水楊酸以 15 mg/mL 之濃度懸浮於 0.5%之甲基纖維素(Cat. No. M7140, Sigma-Aldrich)中（最後劑量：約 150 mg/kg 體重）。

【0066】 每日給藥前直接從相同儲備溶液中新準備劑量溶液。

【0067】 在改變飼料前、DSS 結腸炎引入前及生命終結前即刻，從各個動物收集相當於兩個糞粒的新鮮糞便樣本用於微生物組分析。立即以液氮速凍糞便樣本及在 -80°C 儲存該等樣本。執行速凍以維持在周圍條件下具有多變生長特點的不同細菌之間的比率。

【0068】 在動物生命終結後即刻，用 0.9%之鹽水清洗結腸及準備「瑞士卷」樣本（Moolenbeek 及 Ruitenberg，1981：Lab. Anim. 15:57）。簡言之，縱向剖開經清洗之結腸，絨毛面向

外部地包裹起來及根據標準程式將所得卷固定於甲醛中及嵌入石蠟中。「瑞士卷」製備物使得能夠實現在相同截面玻片上完整結腸黏膜之縱向及定量的組織學評估。根據標準程式利用蘇木精伊紅對截面染色。由兩位獨立且不知情的調查者評估樣本及根據以下基於三個參數的系統計分：

發炎嚴重度：0，固有層內具有稀少發炎細胞；1，固有層內粒細胞數目增加，黏膜下水腫；2，發炎細胞之匯合延伸至黏膜下層內；3，發炎滲透之透壁延伸。

隱窩損傷：0，無損傷隱窩；1，基底損失三分之一；2，基底損失三分之二；3，整個隱窩損失；4，具有糜爛的上皮表面變化；5，匯合糜爛。

潰瘍：0，無潰瘍；1，1 或 2 個潰瘍點；2，3 或 4 個潰瘍點；3，匯合或大範圍潰瘍。

最大組織學計分為  $3+5+3=11$ 。

**【0069】** 將所得結腸黏膜之不知情組織學評估選擇作為所主張之 NAM 調配物之治療性效果的硬性端點。

**【0070】** 第 3 圖中圖示四個群組之組織學計分，表示為平均值及標準差。僅使用最佳的經保存及經準備之結腸樣本及截面（在下文中的括弧內表示動物數目）。計分如下：

群組 1（水對照）： $6.25 \pm 1.39$  (n=8)；

群組 2（水含 NAM）： $5.14 \pm 1.07$  (n=7)；

群組 3：（NAM 控制釋放錠劑）： $3.38 \pm 0.92$  (n=8)；

群組 4 (5-ASA)： $6.50 \pm 1.60$  (n=8)。

**【0071】** 儘管與水對照(p=0.1)相比，飲用水中的 NAM 僅引

起組織學發炎計分中的傾向性下降，但是觀察到在 NAM 控制釋放錠劑與水對照群組 ( $p < 0.001$ ) 之間及重要地亦在水含 NAM 與 NAM 控制釋放 ( $p < 0.01$ ) 之間皆存在非常顯著的差異。有趣的是，治療對照 5-ASA (改善正常 DSS 結腸炎及廣泛用於人類中發炎性腸病之治療) 在無色胺酸或菸酸的情況下不能改善 DSS 結腸炎 (第 3 圖)。該等發現支持本發明之概念，作用於腸道微生物相上及結腸炎上的 NAM 之有益效應並未藉由經由口部胃管灌食的全身輸送得以最佳利用，反而藉由腸道內的控制釋放調配物最佳地利用了該等有益效應，以及 NAM 之主要效果作用於腸道內的局部環境上。

**【0072】 實例 5：**

**【0073】** 爲了進一步特徵化用於對腸道上皮目標輸送菸鹼醯胺的控制釋放調配物，在小鼠中的葡聚糖硫酸鈉(DSS)結腸炎模型中實行第二個概念證明型研究。在此第二個及較大概念證明型研究中，以三個不同劑量檢驗用於 NAM 的控制釋放顆粒調配物。由於治療對照在 DSS 結腸炎中通常有效，使用了含有 5-胺基水楊酸的控制釋放顆粒 (5-ASA 顆粒；PENTASA, Ferring Pharmaceuticals, Saint-Prex, Switzerland)。

**【0074】** 用於 NAM 的控制釋放調配物爲 25%之菸鹼醯胺、70%之磷酸氫鈣及 5%之聚維酮(Povidone)K30 顆粒。平均顆粒大小爲 234  $\mu\text{m}$ 。該等顆粒隨後利用乙基纖維素 7 包覆薄膜以達成 30%之重量增加及平均顆粒大小爲 640  $\mu\text{m}$ 。過濾移除尺寸小於 355  $\mu\text{m}$  之顆粒。對照顆粒利用等量磷酸氫鈣替換 NAM。

【0075】 雄性 C57BL/6J 小鼠（無特定病原體；Charles River Laboratories, Saint-Germain-sur-l'Arbresle, 法國）在年齡>12 周及馴化 1.5 個月時被帶入檢驗設備中，以便豐富及穩定該等小鼠的微生物相。在馴化階段期間的飼料為飼料 A4，由 SAFE (Scientific Animal Food and Engineering, Augy, 法國) 生產。在馴化後，飼料改變為無色胺酸或菸鹼酸或菸鹼醯胺的定製飼料（無 Trp/Nia/NAM 飼料），該定製飼料由 Ssniff (Soest, 德國) 製造。作為粉末供應無 Trp/Nia/NAM 飼料，該粉末在沒有顆粒、無 NAM 或 5-ASA 之對照顆粒、NAM 顆粒或 5-ASA 顆粒的情況下用於準備食物小球。在飼料中均勻分散顆粒。利用最低量無菌水形成近 2 cm 長度及 1 cm 直徑之食物小球，以單次使用分量在 -20°C 冷凍用於儲存及每日新解凍用於餵食小鼠。以 30 g 體重之計算基準及 3 g 之食物日攝入量界定食物小球之顆粒含量如下：

5-ASA 顆粒（5-ASA 之目標劑量：150 mg/kg 體重；5-ASA 含量：52%）：3 g 食物需要 4.5 mg 5-ASA；3 g 食物需要 8.65 mg 顆粒；每千克食物添加 2.88 g 顆粒。以類似方式計算針對其他顆粒的固定劑量。

NAM 顆粒（NAM 之目標劑量：30 mg/kg、60 mg/kg 或 120 mg/kg 體重；NAM 含量：19.1%）：對於 30 mg/kg NAM，每千克食物 1.57 g 顆粒；對於 60 mg/kg NAM，每千克食物 3.14 g 顆粒；對於 120 mg/kg NAM，每千克食物 6.28 g 顆粒。

以與 120 mg/kg 劑量群組之 NAM 顆粒之相同比率（亦即，每千克食物 6.28 g 顆粒）給食物添加對照顆粒。

5

**【0076】** 在飼料轉換成有顆粒或無顆粒之無 Trp/Nia/NAM 飼料當日，開始如下文所詳細說明對群組 1 及群組 2 執行口部胃管灌食治療方案。給與有顆粒或無顆粒之無 Trp/Nia/NAM 飼料及胃管灌食治療兩者，直至小鼠生命終結。在無 Trp/Nia/NAM 飼料 12 天后，小鼠受飲用水中 1.5% 之 DSS (TDB Consultancy, Uppsala, 瑞典) 攻擊五天及在另外兩天供應正常飲用水之後生命終結。

**【0077】** 利用七個群組（每群組 10 只小鼠）實施治療方案，治療該等小鼠如下：

群組 1：每日口部胃管灌食 0.1 mL 載劑（無菌水）。

群組 2：每日用無菌水（18 mg/mL；最後劑量：約 60 mg/kg 體重）口部胃管灌食 0.1 mL NAM (Sigma-Aldrich, Brøndby, 丹麥) 溶液。

群組 3：飼料中含有對照顆粒（顆粒含量對應於群組 6）。

群組 4：飼料中含有 NAM 顆粒（最後劑量：30 mg/kg 體重）。

群組 5：飼料中含有 NAM 顆粒（最後劑量：60 mg/kg 體重）。

群組 6：飼料中含有 NAM 顆粒（最後劑量：120 mg/kg 體重）。

群組 7：飼料中含有 5-ASA 顆粒（最後劑量：150 mg/kg 體重）。

**【0078】** 每日給藥前直接從相同儲備溶液中新準備劑量溶液。

**【0079】** 在改變飼料前、DSS 結腸炎引入前及生命終結前即刻，從各個動物收集相當於兩個糞粒的新鮮糞便樣本用於微生物組分析。立即以液氮速凍糞便樣本及在 -80°C 儲存該等樣本。執行速凍以維持在周圍條件下具有多變生長特點的不同

細菌之間的比率。

**【0080】** 自 DSS 攻擊之開始，每日監控小鼠的大體健康狀況及針對疾病活性指數 (DAI) 的相關參數，亦即腹瀉及可見便血。在生命終結之後，執行結腸炎症之宏觀計分。根據 Melgar 等人於 2005 年發表的論文 (Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 288:G1328) 計算具有理論最大值為 9 的 DAI。DAI 資料概括在表 2 中及第 4 圖圖示 (類似於實例 4 之資料) 水含 NAM 在此實驗設定中僅顯示出不明顯的改良趨勢，而 NAM 之控制釋放調配物 (NAM 顆粒) 則引起 DAI 之非常顯著及劑量依賴性下降。重要的是，接收 60 mg/kg NAM 的 NAM 顆粒群組比接收 60 mg/kg 水含 NAM 的群組具有明顯較低的 DAI (表 2)。5-ASA 顆粒顯示出不明顯的療效趨勢。

**【0081】**

群組	DAI	統計顯著性
水	5.70±0.24	不適用
水含 NAM (60 mg/kg)	5.40±0.25	與水相比不顯著
對照顆粒	5.00±0.25	不適用
NAM 顆粒 (30 mg/kg)	3.56±0.35	與對照顆粒相比 p=0.03
NAM 顆粒 (60 mg/kg)	2.11±0.35	與對照顆粒相比 p<0.01； 與水含 NAM (60 mg/kg) 相比 p<0.001
NAM 顆粒 (120 mg/kg)	1.90±0.23	與對照顆粒相比 p<0.001
5-ASA 顆粒 (150 mg/kg)	4.67±0.42	與水或對照顆粒相比不顯著

表 2：疾病活性指數 (DAI) 資料及其統計學評估。

**【0082】** 髓過氧化物酶 (MPO) (一種在嗜中性多形核粒細胞中所含的酶) 的量係針對嗜中性復原的定量組織標記及間接地允許量化由 DSS 結腸炎中的嗜中性調節之急性結腸炎症。

**【0083】** 為了檢定鼠類結腸組織之 MPO 含量，根據製造商推

薦利用 Hycult MPO 小鼠 ELISA 工具箱 (Cat. No. HK210; Hycult Biotech; CliniSciences, Nanterre, 法國) 分析代表性結腸組織樣本。

【0084】 儘管水含 NAM 僅顯示出不明顯的 MPO 下降趨勢，觀察到以 60 mg/kg 及 120 mg/kg 之劑量接收 NAM 顆粒的小鼠群組中 MPO 水準顯著下降，再次指示僅當作爲控制釋放調配物給與 NAM 時 NAM 才有顯著的治療性效應(表 3, 第 5 圖)。

【0085】

群組	MPO	統計顯著性
水	236.41±9.1	不適用
水含 NAM (60 mg/kg)	219.71±12.16	與水相比不顯著
對照顆粒	240.25±5.18	不適用
NAM 顆粒 (30 mg/kg)	234.61±21.96	與對照顆粒相比不顯著
NAM 顆粒 (60 mg/kg)	212.42±10.08	與對照顆粒相比 $p < 0.05$ ( $p = 0.036$ )
NAM 顆粒 (120 mg/kg)	202.76±4.97	與對照顆粒相比 $p < 0.001$
5-ASA 顆粒 (150 mg/kg)	232.69±6.73	與水或對照顆粒相比不顯著

表 3：結腸內髓過氧化物酶(MPO)水準之量化及統計學分析。

【0086】 實例 6:

【0087】 如實例 4 及實例 5 中所描述之動物研究之結果表明 NAM 控制釋放調配物之顯著療效，利用如 Hashimoto 等人於 2012 年 (Nature 487:477) 所描述之完全相同的方法學及機械 (16srDNA 種系發生學及 454 標籤測序) 分析來自實例 5 中所描述之研究中的小鼠腸道微生物組。在分析實例 5 中所描述之疾病參數前，從已經接收控制釋放顆粒的五個群組 (群

組 3 至群組 7) 中以不知情的方式已經選定八隻動物。比較營養干預前(正常、無結腸炎菌群作為參考點)與無 Trp/Nia/NAM 飼料 12 天后 (DSS 攻擊前即刻, 見實例 5) 所有該等小鼠之糞便樣本。

**【0088】** 第 6 圖圖示無 Trp/Nia/NAM 飼料的 12 天導致主導門系自擬桿菌門至厚壁菌門之顯著轉變。可部分或劑量依賴性地藉由 NAM 控制釋放顆粒防止此情況。5-ASA 控制釋放顆粒顯示出在相同方向之趨勢 (第 6 圖)。另外, 細菌群組之更加詳細的相似百分比分析(SIMPER)顯示 NAM 控制釋放引入未分類擬桿菌目及擬桿菌目帕拉普氏菌屬之擴充(第 7 圖; 柱體之陰影線部分)。

**【0089】** 擬桿菌目之有益共生物屬於哺乳動物腸道中的主要代表屬且對於營養處理係重要的, 因為該等共生物水解膳食多糖及將膳食多糖轉換成可由宿主使用之短鏈脂肪酸(short chain fatty acids; SCFAs)。在 NAM 控制釋放顆粒治療下擴充之擬桿菌目群組中發現的對於短鏈脂肪酸最同源的基因組屬於此等 SCFA 生產者。尤其相關的是, 該等有益共生物之盛行及所得腸道 SCFA 之水準在人類發炎性腸病中下降 (Frank 等人, 2007, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:13780)。益生元或益生素的此類微生物相之擴充以及該等微生物相的 SCFA 產物已經在齧齒動物 DSS 結腸炎中顯示出治療有效性 (Osman 等人, 2006, BMC Gastroenterol. 28;6:31; Maslowski 等人, 2009, Nature 461:1282)。另外, 已經顯示擬桿菌目分泌免疫調節碳水化合物結構 (多糖 A), 該等結構可抑制

發炎反應（Mazmanian 等人，2008，Nature 453:620）。

**【0090】** 總而言之，腸道內 NAM 之控制釋放導致有益微生物相中的劑量依賴性增加及減少結腸炎。

**【0091】** 以上實例用於解釋本發明，但不意欲限制本發明之範疇。

**【符號說明】**

無

**【生物材料寄存】**

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

**【序列表】** (請換頁單獨記載)

無

## 發明摘要

※ 申請案號：102121395

※ 申請日：2013 年 06 月 17 日

※IPC 分類：A61K 31/455 (2006.01)  
A61P 1/00 (2006.01)

### 【發明名稱】（中文/英文）

含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸的藥學組合物

A PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING NICOTINIC ACID AND/OR NICOTINAMIDE AND/OR TRYPTOPHAN FOR POSITIVELY INFLUENCING THE INTESTINAL MICROBIOTA

### 【中文】

本發明係關於一種含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸、菸鹼醯胺、色胺酸或相關化合物的新的藥學組合物。在某些實施例中，該藥學組合物部分或全部釋放在小腸或大腸內。

### 【英文】

The present invention relates to a new pharmaceutical composition containing nicotinic acid, nicotinamide, tryptophan or related compounds for positively influencing the intestinal microbiota. In certain embodiments, the pharmaceutical composition is partially or entirely released into the small intestine or large intestine.

### 【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 2 ）圖。

# 發明摘要

※ 申請案號：102121395

※ 申請日：2013 年 06 月 17 日

※IPC 分類：A61K 31/455 (2006.01)  
A61P 1/00 (2006.01)

## 【發明名稱】（中文/英文）

含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸的藥學組合物

A PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING NICOTINIC ACID AND/OR NICOTINAMIDE AND/OR TRYPTOPHAN FOR POSITIVELY INFLUENCING THE INTESTINAL MICROBIOTA

## 【中文】

本發明係關於一種含有用於正向影響腸道微生物相之菸鹼酸、菸鹼醯胺、色胺酸或相關化合物的新的藥學組合物。在某些實施例中，該藥學組合物部分或全部釋放在小腸或大腸內。

## 【英文】

The present invention relates to a new pharmaceutical composition containing nicotinic acid, nicotinamide, tryptophan or related compounds for positively influencing the intestinal microbiota. In certain embodiments, the pharmaceutical composition is partially or entirely released into the small intestine or large intestine.

## 【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 2 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

疾病之治療及/或預防提供治療之新形式。

**【0007】** 根據本發明，藉由含有菸鹼酸、菸鹼醯胺、色胺酸或本文所描述之另一化合物的藥學組合物解決上述問題，發明者認為該藥學組合物正向影響腸道微生物相。在較佳實施例中，給與菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸以局部影響腸黏膜及腸道微生物相。舉例而言，調配活性物質以在終端迴腸或結腸內待修正之腸道微生物相所在位置選擇性地給與該活性物質。本發明亦涵蓋在動物體（例如，人體）中轉換成菸鹼酸及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸之其他活性物質。

**【0008】** 因此，本發明提供含有菸鹼酸（菸酸、維他命 B3）及/或菸鹼醯胺及/或色胺酸的藥學組合物。該等三種物質以抗炎及/或有益方式個別或彼此組合（兩個或三個組合）地作用於小腸及/或大腸內的微生物相。該組合物適合於口服給藥，其中在終端迴腸(*terminal ileum*)及/或結腸內針對特定區域或局部療效控制及/或延遲活性成分之釋放。治療之示例性癥狀包括小腸發炎性疾病之治療或預防、大腸發炎性疾病之治療或預防、結腸癌之預防及由腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間異常的互動引起的其他疾病之治療或預防。組合物亦適合於結腸或結腸袋內的新直腸（*(neo)rectal*）給藥，用於大腸發炎性疾病或結腸袋炎之區域及/或局部治療。

**【0009】** 本發明亦包括利用本文所描述之藥學組合物治療本文所描述之一或更多個疾病及癥狀之方法。另外，本發明提供本文所描述之藥學組合物在製造用於治療本文所描述之一或更多個疾病及癥狀之藥劑中的用途。

## 申請專利範圍

1. 一種正向影響腸道微生物相之活性物質用於製備一藥學組合物之用途，其中該活性物質選自：菸鹼醯胺、色胺酸、色胺酸二肽(tryptophan dipeptide)、菸鹼酸、菸鹼酸酯(nicotinic acid ester)、煙醯胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide；NAD)、煙醯胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate；NADP)、NAD或NADP之生物合成中的一中間物、或上述物質的一組合；其中該中間物選自由N-甲醯犬尿氨酸(N-formylkynurenine)、L-犬尿氨酸(L-kynurenine)、3-羥-L-犬尿氨酸(3-hydroxy-L-kynurenine)、3-羥鄰氨苯甲酸(3-hydroxyanthranilate)、2-氨基-3-羧基黏康酸半醛(2-amino-3-carboxymuconate semialdehyde)、喹啉酸酯(quinolinate)、 $\beta$ -菸鹼酸D-核糖核苷酸(beta-nicotinate D-ribonucleotide)所組成之群組；其中該藥學組合物釋放該活性物質用於終端迴腸、結腸或兩者內的局部療效。

2. 如請求項1所述之用途，其中該藥學組合物經調配用於口服給藥，其中延遲釋放該活性物質以獲得終端迴腸及/或結腸內的特定區域有效性。

3. 如請求項1所述之用途，其中該藥學組合物經調配用於口服給藥，其中控制釋放該活性物質以獲得終端迴腸及/或結腸內的特定區域有效性。

4. 如請求項 1 所述之用途，其中該活性物質選自：菸鹼醯胺、色胺酸、色胺酸二肽、菸鹼酸、菸鹼酸酯。
5. 如請求項 1 所述之用途，其中該藥學組合物用於口服給藥，其中延遲活性物質釋放以獲得小腸之發炎性疾病及/或大腸之疾病之治療或預防，及/或獲得結腸癌之預防，及/或獲得由該腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間的一異常互動引起的其他疾病之治療或預防。
6. 如請求項 1 所述之用途，其中該藥學組合物用於結腸或結腸袋內的直腸或新直腸（neo(rectal)）給藥，以獲得大腸之發炎性疾病或結腸袋炎之治療。
7. 如請求項 1 所述之用途，其中該藥學組合物適用於大腸之發炎性疾病或結腸袋炎之治療或預防。
8. 如請求項 5 所述之用途，其特徵在於以每一成品劑型含 1 mg 至 3000 mg 的一活性物質含量執行該口服給藥。
9. 如請求項 8 所述之用途，其特徵在於以每一成品劑型含 100 mg 至 1000 mg 的一活性物質含量執行該口服給藥。

10. 如請求項 6 所述之用途，其特徵在於執行該直腸應用以獲得直腸或結腸袋內炎症之區域治療。

11. 如請求項 6 所述之用途，其特徵在於以每一成品劑型含 10 mg 至 5000 mg 的一活性物質含量執行該直腸或新直腸給藥。

12. 如請求項 1 所述之用途，其特徵在於除了菸鹼醯胺之外還含有乙醯水楊酸及/或前列腺素 D2 拮抗劑。

13. 如請求項 1 所述之用途，其中該藥學組合物：

(a) 用於發炎性腸病之治療或預防，

(b) 用於結腸癌之治療或預防，或

(c) 用於由該腸道微生物相的變化及/或腸道微生物相與腸道之間的一異常互動引起的其他身體器官的疾病之治療或預防。

14. 如請求項 13 所述之用途，其中該藥學組合物用於發炎性腸病之治療或預防。

15. 如請求項 14 所述之用途，其中該發炎性腸病為潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。

16. 如請求項 1 所述之用途，其中該藥學組合物用於正向影響該腸道微生物相。