(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 105796556 A
(43)申请公布日 2016.07.27

(21)申请号 201610240474.2

(22)申请日 2011.03.02

(30)优先权数据
61/339,375 2010.03.03 US

(62)分案原申请数据
201180012109.1 2011.03.02

(71)申请人 泰华制药工业有限公司
地址 以色列佩塔迪克瓦

(72)发明人 埃朗·布拉歌 诺拉·塔克斯克 乔尔·凯耶

(74)专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司 31224
代理人 刘粉宝

(51)Int.Cl.
A61K 31/4704(2006.01)
A61K 31/519(2006.01)
A61P 19/02(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书14页 附图3页

(54)发明名称

用拉喹莫德和甲氨蝶呤的组合治疗类风湿性关节炎

(57)摘要

本发明提供一种治疗罹患类风湿性关节炎的个体的方法，其包含向所述个体周期性地投与一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤，其中所述量当结合在一起时有效治疗所述个体。本发明还提供拉喹莫德或其药学上可接受的盐，其与甲氨蝶呤组合用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。本发明还提供一种药物组合物，其包含一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤，用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

CN 105796556 A

1.拉喹莫德或其药学上可接受的盐在制备用于治疗患类风湿性关节炎的个体的药物中的用途，其中所述药物包括单位剂量的0.1-2.0mg拉喹莫德，且其中所述个体之前已经接受1-3mg/天甲氨蝶呤疗法或同时正接受1-3mg/天甲氨蝶呤疗法。

2.根据权利要求1所述的用途，其中所述药物和/或甲氨蝶呤经制备为口服剂型。

3.拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤在制备用于治疗患类风湿性关节炎的个体的药物中的用途，其中所述药物包括单位剂量的0.1-2.0mg拉喹莫德和单位剂量的1-3mg甲氨蝶呤。

4.如权利要求1-3任一项所述的用途，其中所述药物被配制用于周期性使用。

5.如权利要求1-3任一项所述的用途，其中药学上可接受的盐是拉喹莫德钠。

6.如权利要求3所述的用途，其中所述药物被配制为口服剂型。

7.如权利要求3所述的用途，其中所述药物基本上包括拉喹莫德和甲氨蝶呤。

8.如权利要求4所述的用途，其中所述药物被配制用于每天使用。

9.如权利要求6或7所述的用途，其中所述药物被配制用于每天使用。

10.如权利要求8所述的用途，其中0.1-2.0mg拉喹莫德存在于所述药物中。

11.如权利要求8要求所述的用途，其中1-3mg甲氨蝶呤存在于所述药物中。

12.如权利要求9要求所述的用途，其中0.1-2.0mg拉喹莫德存在于所述药物中。

13.如权利要求9所述的用途，其中1-3mg甲氨蝶呤存在于所述药物中。

14.如权利要求1-3任一项所述的用途，其中所述药物经制备用于向所述个体投予，该个体正同时接受非类固醇消炎药(NSAID)、水杨酸盐、迟效药物或其组合、金化合物、羟基氯喹、柳氮磺胺吡啶、皮质类固醇、细胞毒性药物、免疫抑制药物和/或抗体中的一种或多种用于治疗类风湿性关节炎。

15.如权利要求1-3任一项所述的用途，其中所述药物另外包含非类固醇消炎药(NSAID)、水杨酸盐、迟效药物或其组合、金化合物、羟基氯喹、柳氮磺胺吡啶、皮质类固醇、细胞毒性药物、免疫抑制药物和/或抗体中的一种或多种。

16.如权利要求3所述的用途，其中个体之前已经接受甲氨蝶呤疗法。

17.如权利要求1-3任一项所述的用途，其中所述个体是人类。

18.一种药物组合物，包含0.1-2.0mg拉喹莫德或其药学上可接受的盐和1-3mg甲氨蝶呤，用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

用拉喹莫德和甲氨蝶呤的组合治疗类风湿性关节炎

[0001] 本申请案主张2010年3月3日申请的美国临时申请案第61/339,375号的优先权，所述申请案的全部内容据此以引用的方式并入本文中。

[0002] 在本申请案通篇，各种公开文献都是通过第一著者和发表年份来提及的。这些公开文献的完整引用呈现在参考文献部分中。参考文献部分中所引用的公开文献的公开内容据此以全文引用的方式并入本申请案中，以便更完整地描述截至本文所述的本发明的日期为止的技术现状。

背景技术

[0003] 类风湿性关节炎

[0004] 类风湿性关节炎(RA)是以周围关节的非特异性、通常对称性的发炎为特征的慢性综合症，潜在地导致关节和关节周围结构的进行性破坏，具有或不具有全身性表现。虽然尚未确定其精确病因，但已确定了遗传倾向性。此外，环境因素被认为起到作用。(默克手册(The Merck Manual)，第7版)

[0005] 根据美国风湿病学会(American College ofRheumatology)(1987)，在将病状归类为类风湿性关节炎之前必须满足以下准则中的至少四个(阿内特(Arnett)，1988)：1)至少6周中大多数早晨出现晨起关节僵硬>1小时；2)14个关节/关节组中>3个具有关节炎和软组织肿胀，存在至少6周；3)手关节的关节炎，存在至少6周；4)对称性关节炎，存在至少6周；5)特定位置中的皮下结节；6)类风湿因子含量高于95％；和7)放射性变化表明关节侵蚀。

[0006] 不存在类风湿性关节炎的已知治愈方法，但许多不同类型的治疗可以用来减轻症状和/或改变病程。RA的药理学治疗包括非类固醇消炎药(NSAID和水杨酸盐；迟效药物；金化合物；羟基氯喹(hydroxychloroquine)；柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)；迟效药物、皮质类固醇和细胞毒性或免疫抑制药物的组合。治疗的其它形式包括休息、营养供给、运动、物理疗法和手术。(默克手册(The Merck Manual)，第7版)

[0007] 拉喹莫德(Laquinimod)

[0008] 拉喹莫德是一种具有高口服生物可用性的新颖合成化合物，已被提出作为治疗多发性硬化症(MS)的口服调配物(波尔曼(Polman)，2005；桑德伯格-沃尔海姆(Sandberg-Wollheim)，2005)。拉喹莫德和其钠盐形式描述于例如美国专利第6,077,851号中。拉喹莫德与甲氨蝶呤(methotrexate)组合对类风湿性关节炎的作用未有报导。

[0009] 甲氨蝶呤(Methotrexate)

[0010] 甲氨蝶呤(缩写为：MTX)是一种用于治疗癌症和自体免疫疾病的抗代谢药物。它通过抑制二氢叶酸还原酶来抑制叶酸的代谢而起作用，并且阻断快速增殖的细胞中的DNA合成。这些作用诱发免疫抑制。

[0011] MTX是以商标名称Rheumatrex®和Trexall™销售的。Rheumatrex®和Trexall™主治某些种类的癌症、牛皮癣和类风湿性关节炎。

[0012] 包括MTX的细胞毒性/免疫抑制药物越来越多地被用于重度活动性RA。这些药物可抑制发炎，并且可允许减少皮质类固醇剂量。(默克手册(The Merck Manual)，第7版)

[0013] 用于人类的重度类风湿性关节炎的推荐剂量(基于共识的)是:初始每周一次口服10到15mg,每隔2到3周每周增加5mg,直到最多每周20到30mg。用于人类的重度类风湿性关节炎的制造商推荐剂量是:初始每周一次口服7.5mg,或每隔12小时口服2.5mg持续3剂,每周一次;到最多每周20mg。(医师案头参考手册(Physicians'Desk Reference))

[0014] 组合疗法

[0015] 投与两种药物来治疗既定病状(例如类风湿性关节炎)引起许多潜在问题。两种药物之间的体内相互作用是复杂的。任何单一药物的作用都与其吸收、分布和消除有关。当将两种药物引入身体中时,每一药物都会影响另一药物的吸收、分布和消除,且因此改变另一药物的作用。举例来说,一种药物可抑制、活化或诱导与另一药物的消除的代谢途径有关的酶的产生(工业指南(Guidance for Industry),1999)。因此,当投与两种药物来治疗相同病状时,无法预知各药物在人类个体中对另一药物的治疗活性将起补充作用、没有影响还是起干扰作用。

[0016] 两种药物之间的相互作用不仅可能影响各药物的预期治疗活性,这一相互作用还可能增加毒性代谢物的含量(工业指南(Guidance for Industry),1999)。所述相互作用还可能增大或减小各药物的副作用。因此,在投与两种药物来治疗疾病时,无法预知在各药物的负面特征中会发生何种变化。

[0017] 另外,难以准确地预测两种药物之间的相互作用的影响何时会显现出来。举例来说,在初始投与第二药物后、在两种药物已经达到稳态浓度之后或在中止一种药物后,药物之间的代谢相互作用可变得明显(工业指南(Guidance for Industry),1999)。

发明内容

[0018] 本发明提供一种治疗罹患类风湿性关节炎的个体的方法,其包含向个体周期性地投与一定量的拉喹莫德或其医药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤,其中所述量当结合在一起时有效治疗个体。

[0019] 本发明还提供拉喹莫德或其药学上可接受的盐,其与甲氨蝶呤组合用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

[0020] 本发明还提供一种药物组合物,其包含一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤,用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

附图说明

[0021] 图1:图1是个别组织病理学参数(六个关节)的图:条形图展示了对照组和处理组中的各组织病理学参数的(六个关节的)平均计分。("LAQ"指示拉喹莫德,"MTX"指示甲氨蝶呤)(*p≤0.05针对媒剂组的史都登氏t试验(student's t-test),#p≤0.05针对媒剂组的史都登氏t试验,n=10只/处理组,n=4只/正常对照组。)y轴展示了个别组织病理学参数(六个关节)的平均值±SE。(计分:0-正常,1=最小,2=轻度,3=中度,4=明显,和5=重度)

[0022] 各处理组中左侧最大的条形(黑色)表示发炎。各处理组中左起第二个条形(浅灰色)表示血管翳。各处理组中左起第三个条形(白色)表示软骨损伤,且各处理组中左起第四个条形(暗灰色)表示骨损伤。

[0023] 图2:图2是六个关节动物计分的图:条形图展示了对照组和处理组的总计分(六个关节的个别组织病理学参数的计分的总和)。("LAQ"指示拉喹莫德,"MTX"指示甲氨蝶呤)(*p≤0.05针对媒剂组的史都登氏t试验,#p≤0.05针对媒剂组的史都登氏t试验,n=10只/处理组,n=4只/正常对照组。)y轴展示了六个关节动物计分(个别参数的总和)的平均值±SE。

[0024] 图3:图3展示了各处理组的临床关节炎计分进展(计分0-5)。(*p≤0.05针对媒剂组的史都登氏t试验,#p≤0.05针对MTX组的史都登氏t试验,n=10只/处理组,n=4只/正常对照组。)y轴展示了临床关节炎计分(计分0-5)的平均值±SE。

具体实施方式

[0025] 本发明提供一种治疗罹患类风湿性关节炎的个体的方法,其包含向个体周期性地投与一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤,其中所述量当结合在一起时有效治疗个体。

[0026] 在一个实施例中,拉喹莫德或其药学上可接受的盐的量和甲氨蝶呤的量当结合在一起时比当单独投与各药剂时更有效地治疗个体。

[0027] 在一个实施例中,拉喹莫德或其药学上可接受的盐的量和甲氨蝶呤的量当结合在一起时有效减少个体中的类风湿性关节炎的临床症状。在另一实施例中,拉喹莫德的药学上可接受的盐是拉喹莫德钠。

[0028] 在一个实施例中,拉喹莫德或其药学上可接受的盐的周期性投与是经口实现的。在另一实施例中,所投与的拉喹莫德的量是每天0.0005-10mg/kg。在又另一实施例中,所投与的拉喹莫德的量是每天0.1-2.0mg。

[0029] 在一个实施例中,甲氨蝶呤的周期性投与是经口实现的。在另一实施例中,所投与的甲氨蝶呤的量是每天0.02-1.0mg/kg。在另一实施例中,所投与的甲氨蝶呤的量是每天1-3mg。

[0030] 在一个实施例中,所述方法另外包含投与非类固醇消炎药(NSAID);水杨酸盐;迟效药物;金化合物;羟基氯喹;柳氮磺胺吡啶;迟效药物、皮质类固醇、细胞毒性药物、免疫抑制药物和/或抗体的组合。

[0031] 在一个实施例中,周期性投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤可实质上消除与类风湿性关节炎相关的症状。在另一实施例中,周期性投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤可降低与类风湿性关节炎相关的症状的严重程度。在又另一实施例中,周期性投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤可减少受与类风湿性关节炎相关的症状影响的关节的数目。

[0032] 在一个实施例中,症状是发炎。在另一实施例中,症状是血管翳组织形成。在另一实施例中,症状是软骨损伤。在另一实施例中,症状是骨再吸收。

[0033] 在一个实施例中,周期性投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤可减少个体中的蛋白尿。在另一实施例中,蛋白尿减少是通过24小时尿蛋白、24小时蛋白质比肌酸酐比率、单泡尿蛋白(spot protein)比肌酸酐比率、24小时尿白蛋白、24小时白蛋白比肌酸酐比率、单泡尿白蛋白比肌酸酐比率或通过尿试纸来测量的。在又另一实施例中,周期性投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐和甲氨蝶呤可消除尿沉渣。

[0034] 在一个实施例中，拉喹莫德或其药学上可接受的盐的量当单独采用时以及甲氨蝶呤的量当单独采用时各自可有效地治疗个体。在另一实施例中，拉喹莫德或其药学上可接受的盐的量当单独采用时、甲氨蝶呤的量当单独采用时或每一所述量当单独采用时无法有效治疗个体。

[0035] 在一个实施例中，个体在开始拉喹莫德疗法之前正接受甲氨蝶呤疗法。在另一实施例中，个体在开始周期性拉喹莫德投与之前开始周期性甲氨蝶呤投与。

[0036] 在一个实施例中，投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐实质上先于投与甲氨蝶呤。在另一实施例中，投与甲氨蝶呤实质上先于投与拉喹莫德或其药学上可接受的盐。

[0037] 在一个实施例中，个体是哺乳动物。在另一实施例中，哺乳动物是人类。

[0038] 本发明提供一种治疗罹患类风湿性关节炎的个体的类风湿性关节炎的方法，其包含向个体周期性地投与一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤，其中所述量当结合在一起时有效治疗个体的类风湿性关节炎。

[0039] 本发明还提供拉喹莫德或其药学上可接受的盐，其与甲氨蝶呤组合用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

[0040] 本发明还提供一种药物组合物，其包含一定量的拉喹莫德或其药学上可接受的盐和一定量的甲氨蝶呤，用于治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

[0041] 对于前述实施例，本文所公开的各实施例预期可适用于其它所公开的实施例中的每一者。

[0042] 应了解，在提供参数范围时，这一范围内的所有整数和其十分位数也由本发明提供。举例来说，“每天0.2-5mg/kg”包括每天0.2mg/kg、每天0.3mg/kg、每天0.4mg/kg、每天0.5mg/kg、每天0.6mg/kg等，最多每天5.0mg/kg。

[0043] 公开一种使用拉喹莫德与甲氨蝶呤治疗罹患类风湿性关节炎的个体的方法，其提供比单独各药剂更有效的治疗。根据本发明，组合投与拉喹莫德与甲氨蝶呤可特别有效地治疗罹患类风湿性关节炎的个体。

[0044] 术语

[0045] 如本文所用，且除非另外说明，否则以下术语各自应具有下文所阐述的定义。

[0046] 如本文所用，“拉喹莫德”意谓拉喹莫德酸或其药学上可接受的盐。

[0047] 如本文所用，“罹患类风湿性关节炎的个体”意谓已经被肯定地诊断为患有类风湿性关节炎的个体。

[0048] 如本文所用，如以毫克为单位测量的拉喹莫德的“量”或“剂量”指的是存在于制剂(无论制剂的形式如何)中的拉喹莫德酸的毫克数。

[0049] 如本文所用，当提及拉喹莫德和/或甲氨蝶呤的量时，“有效的”指的是拉喹莫德和/或甲氨蝶呤的量当以本发明的方式使用时足以获得所要治疗反应，而无过度不良副作用(例如毒性、刺激或过敏反应)，并且与合理的益处/风险比相称。

[0050] 如本文所用，“实质上消除”与类风湿性关节炎相关的症状意谓使所述症状的出现减少至少96％。

[0051] 如本文所用，“治疗”涵盖例如诱导病症的抑制、消退或停滞，或者减轻、抑止、抑制、消除、改善病症的症状，或降低其严重程度。

[0052] 如本文所用，“抑制”个体中的疾病进展或疾病并发症意谓预防或减少个体中的疾

病进展和/或疾病并发症。

[0053] 如本文所用，与类风湿性关节炎相关的“症状”包括与类风湿性关节炎相关的任何临床或实验室表现且不限于个体可感觉或观测到的那些。发炎是类风湿性关节炎的一种症状。

[0054] 如本文所用，“不良事件”或“AE”意谓在被投与医药产品的临床试验个体中发生的任何不幸的医学事件，且其与治疗不具有因果关系。不良事件因此可能是任何不利且非预期的征兆，包括异常实验室发现、症状或与使用研究医药产品暂时相关的疾病(不管是否视为与研究医药产品相关)。

[0055] 如本文所用，“药学上可接受的载剂”指的是适合用于人类和/或动物而没有过度不良副作用(例如毒性、刺激和过敏反应)并且与合理利益/风险比相称的载剂或赋形剂。其可以是用于向个体递送本发明化合物的药学上可接受的溶剂、悬浮剂或媒剂。

[0056] 当提及给药时，标示“BID”指示每天两次投与剂量。标示“QD”指示每天一次投与剂量。

[0057] 拉喹莫德用于类风湿性关节炎的用途先前已经在例如美国专利第6,077,851号中提出过。然而，本发明人已经令人惊讶地发现，对于治疗类风湿性关节炎，拉喹莫德和甲氨蝶呤(MTX)的组合与单独各药剂相比显著更有效。

[0058] 如本申请案中所使用的拉喹莫德的药学上可接受的盐包括锂盐、钠盐、钾盐、镁盐、钙盐、锰盐、铜盐、锌盐、铝盐和铁盐。拉喹莫德的盐调配物和其制备工艺描述于例如美国专利申请公开案第2005/0192315号和PCT国际申请公开案第WO 2005/074899号中，所述公开案据此以引用的方式并入本申请案中。

[0059] 剂量单位可包含单一化合物或其化合物的混合物。可以制备剂量单位用于口服剂型，例如片剂、胶囊、丸剂、散剂和颗粒剂。

[0060] 拉喹莫德可与关于预期投与形式且按照常规医药实践适合地选择的适合医药稀释剂、增量剂、赋形剂或载剂(在本文中统称为药学上可接受的载剂)混合投与。所述单位优选地呈适于经口投与的形式。拉喹莫德可单独投与，但通常与药学上可接受的载剂混合，且以片剂或胶囊、脂质体的形式或以聚结粉末的形式共投与。适合固体载剂的实例包括乳糖、蔗糖、明胶和琼脂。胶囊或片剂可容易地调配且可被制成易于吞咽或咀嚼；其它固体形式包括颗粒和松散粉末。片剂可含有适合粘合剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、调味剂、流动诱导剂和熔融剂。举例来说，对于以片剂或胶囊的剂量单位形式经口投与，可将活性药物组分与口服无毒的药学上可接受的惰性载剂(例如乳糖、明胶、琼脂、淀粉、蔗糖、葡萄糖、甲基纤维素、磷酸二钙、硫酸钙、甘露糖醇、山梨糖醇、微晶纤维素和其类似物)组合。适合粘合剂包括淀粉、明胶、天然糖(例如葡萄糖或β-乳糖)、玉米淀粉、天然和合成胶(例如阿拉伯胶、黄蓍胶或海藻酸钠)、聚维酮(povidone)、羧甲基纤维素、聚乙二醇、蜡和其类似物。用于这些剂型中的润滑剂包括油酸钠、硬脂酸钠、苯甲酸钠、乙酸钠、氯化钠、硬脂酸、硬脂富马酸钠、滑石和其类似物。崩解剂包括(但不限于)淀粉、甲基纤维素、琼脂、膨润土(bentonite)、三仙胶(xanthan gum)、交联羧甲纤维素钠、羟乙酸淀粉钠和其类似物。

[0061] 可用于调配本发明的口服剂型的技术、药学上可接受的载剂和赋形剂的具体实例描述于例如美国专利申请公开案第2005/0192315号、PCT国际申请公开案第WO 2005/074899号、第WO 2007/047863号和第WO 2007/146248号中。

[0062] 用于制造适用于本发明中的剂型的一般技术和组合物描述于以下参考文献中:7现代药剂学(7Modern Pharmaceutics),第9章和第10章(班克和罗兹(Banker&Rhodes)编,1979);药物剂型:片剂(Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets)(利伯曼(Lieberman)等人,1981);安塞尔(Ansel),药物剂型导论(Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms)第2版(1976);雷明顿药学大全(Remington's Pharmaceutical Sciences)第17版(麦克出版公司(Mack Publishing Company),伊斯顿(Easton),宾夕法尼亚州(Pa.),1985);药学进展(Advances in Pharmaceutical Sciences)(大卫甘德顿(David Ganderton),特雷弗琼斯(Trevor Jones)编,1992);药学进展(Advances in Pharmaceutical Sciences)第7卷(大卫甘德顿(David Ganderton),特雷弗琼斯(Trevor Jones),詹姆斯麦金蒂(James McGinity)编,1995);用于药物剂型的水性聚合物包衣(Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms)(药物与制药科学(Drugs and the Pharmaceutical Sciences),系列36(詹姆斯麦金蒂(James McGinity)编,1989);颗粒药物载剂:治疗应用(Pharmaceutical Particulate Carriers:Therapeutic Applications):药物与制药科学(Drugs and the Pharmaceutical Sciences),第61卷(阿兰罗兰(Alain Rolland)编,1993);胃肠道的药物递送(Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract)(埃利斯霍伍德生物科学图书(Ellis Horwood Books in the Biological Sciences).制药技术丛书(Series in Pharmaceutical Technology);J.G.哈迪(J.G.Hardy),S.S.戴维斯(S.S.Davis),克莱夫G.威尔逊(Clive G.Wilson)编);现代药剂学(Modern Pharmaceutics)药物与制药科学(Drugs and the Pharmaceutical Sciences),第40卷(吉尔伯特S.班克(Gilbert S.Banker),克里斯托弗T.罗兹(Christopher T.Rhodes)编)。这些参考文献据此以全文引用的方式并入本申请案中。

[0063] 本发明将参考随后的实验详情得到更好理解,但本领域普通技术人员将易于理解,详述的特定实验仅说明本发明,而本发明更充分地描述于之前的权利要求书中。

[0064] 实验详情

[0065] 实例1:评估经口(PO)且每天(QD)投与的消炎剂在35天DBA/101ahsd小鼠的半确定性II型胶原蛋白性关节炎(MTTC/TV-9)中的作用

[0066] 引言

[0067] 当使用各种方法针对牛II型胶原蛋白对小鼠(DBA/11acJ、1J或B10R111)进行免疫(包括在第0天、第15天、第16天或第21天免疫时存在或不存在用内毒素或重组IL-1同时进行增强免疫)(本德勒(Bendele),2001)时,小鼠确实患上多发性关节炎(特伦特姆(Trentham),1977)。出现的疾病通常不对称且脚爪/关节的任何组合都可能受到影响。因为测径规测量小的小鼠踝具有挑战性,所以主观临床计分系统经常与组织学计分方法结合使用。治疗可以是预防性的(通常从第16-21天开始)或治疗性的(在观测到病变之后),并且取决于所用免疫方案和所要的破坏程度,可以延续10天到数周。受影响的关节中的病变类似于在大鼠胶原蛋白性关节炎生物药剂(例如白细胞介素-1受体拮抗剂(IL-1ra)和可溶性TNP受体)中出现的病变(伍利(Wooley),1993;巴克(Bakker),1997;茱斯顿(Joosten),1994;茱斯顿(Joosten),1996;盖革(Geiger),1993)。已证实在用II型胶原蛋白免疫且同时给予细胞因子(例如IL-1)的小鼠中疾病发病率和严重程度增加(霍姆(Hom),1991;霍姆

(Hom),1988)。

[0068] 本研究经设计以测定单独或与甲氨蝶呤(MTX)(作为潜在消炎剂)组合投与(口服,每天一次)的潜在消炎剂(拉喹莫德0.2、1或5mg/kg)用于抑制小鼠中与半确定性II型胶原蛋白性关节炎相关的发炎、软骨破坏和骨再吸收的功效。小鼠II型胶原蛋白性关节炎是用于人类的类风湿性关节炎的本领域公认的动物模型(本德勒(Bendele),2001)。

[0069] 此处,在研究第18-33天,对患有半确定性II型胶原蛋白性关节炎的雄性DBA/101aHsd小鼠每天(QD)经口(PO)给予媒剂、拉喹莫德(0.2、1或5mg/kg)、甲氨蝶呤(0.5mg/kg,MTX),或拉喹莫德(0.2或1mg/kg)与MTX(0.5mg/kg)的组合。小鼠在第34天终止给药。基于动物体重、每天临床关节炎计分、以曲线下面积(AUC)表示的关节炎计分,以及来自小鼠的前脚爪、后脚爪和膝盖的组织病理学(仅第1-3、5和8组)评估功效。组织病理学结果以4个脚爪、仅膝盖,或6个关节(包括膝盖)表示。还进行血清抗II型胶原蛋白抗体含量的评估(仅第1-3、6和8组)。所有动物都存活到研究终止。

[0070] 动物

[0071] 获得74只雄性DBA/101aHsd(哈兰公司(Harlan Inc.)),其在到达时为5-7周龄且在研究第18天时体重为约17-22克。小鼠在第一次免疫时至少6周大。

[0072] 材料:含药剂或药物的媒剂、II型胶原蛋白(弹性蛋白产品公司(Elastin Products)),弗氏完全佐剂(Freund's complete adjuvant)(补充有结核分枝杆菌(M.tuberculosis),4mg/ml)(蒂夫科(Difco))。

[0073] 一般研究设计

[0074] 1.使动物(10只/关节炎组,4只/正常组,圈养5只/笼)在到达后适应环境8天,所有动物都至少7周龄。

[0075] 2.在尾根处用异氟烷使小鼠麻醉且向其给予150μl于含有牛II型胶原蛋白(弹性蛋白产品公司(Elastin Products),欧文斯维尔(Owensville),密苏里州(MO))的弗氏完全佐剂注射液(西格玛(Sigma))中的牛II型胶原蛋白(2mg/ml)(第0天和第21天)。

[0076] 3.在研究第18天依据体重将小鼠随机分为多个处理组。

[0077] 4.MTX是由博尔德生物路径公司(Bolder BioPATH,Inc.)以购自MWI的1mg/ml储备溶液形式提供的且被制备为于1%CMC中的0.05mg/ml溶液用于以10ml/kg给药。

[0078] 5.所有剂量溶液都被制备成以10ml/kg(0.3ml/30g)小鼠递送。

[0079] 6.处理是根据表1从研究第18天开始且持续每天一次,每天进行(口服,每天一次)。

[0080] 表1:处理给药时程

[0081]

组	N	化合物	途径	方案	剂量水平(Mg/kg)	剂量浓度(mg/ml)
1	4	未处理	NA	NA	0	0
2	10	媒剂疾病对照	NA	NA	0	0
3	10	MTX (0.5 mg/kg)	po	QD	0.5	0.05
4	10	拉喹莫德	po	QD	0.2	0.02
5	10	拉喹莫德	po	QD	1	0.1
6	10	拉喹莫德	po	QD	5	0.5
7	10	拉喹莫德和MTX(0.5 mg/kg)	po	QD	0.2	0.02
8	10	拉喹莫德和MTX(0.5 mg/kg)	po	QD	1	0.1

[0082] *对于所有试验组:n=10,BW=30g,剂量体积=10ml/kg,给药17天

[0083] 7.在处理期间,根据表2对每一脚爪(右前、左前、右后、左后)给出临床计分。

[0084] 表2:前脚爪和后脚爪的临床计分准则

[0085]

计分	描述
0	正常
1	1个后或前脚爪关节受影响或极小的弥漫性红斑和肿胀
2	2个后或前脚爪关节受影响或轻度弥漫性红斑和肿胀
3	3个后或前脚爪关节受影响或中度弥漫性红斑和肿胀
4	显著的弥漫性红斑和肿胀,或=4个足趾关节受影响
5	全部脚爪重度弥漫性红斑和重度肿胀,不能弯曲足趾

[0086] 8.在第21-35天,出现关节炎发作。在关节炎第18、20、22、24、26、28、30、32天,和在第34天(最后一天)组织收集之前对小鼠称重。

[0087] 9.在尸体剖检时,通过心脏穿刺使所有组的动物出血以获得血清且通过颈部脱臼法将其杀死。切下前脚爪、后脚爪和膝盖且置于10%NBF中。使全血在室温下凝块,保持约2小时,随后以13,000rpm旋转8分钟。

[0088] 10.关节的处理:在置于固定剂中1-2天且随后置于脱钙液中4-5天之后,对关节进行处理、包埋、切片且用甲苯胺蓝和H&E染色(每只动物2个切片)。起初仅处理前和后脚爪以及膝盖(6个关节/小鼠)。

[0089] 11.形态病理学方法:仅对第1-3、5和8组进行组织病理学检查。在置于固定剂中1-2天且置于5%甲酸中脱钙4-5天之后,对组织进行修剪,处理用于石蜡包埋,切成8μm切片且用甲苯胺蓝(T蓝)染色。包埋后脚爪、前脚爪和膝盖且以额状面切片。处理各动物的六个关节用于组织病理学评估。

[0090] 12.组织处理和评估:

[0091] a.将关节置于脱钙液中,

[0092] b.修剪关节,洗涤,处理组织,

[0093] c.包埋关节,

[0094] d.对组织进行切片,对组织染色,

[0095] e.组织病理学评估,和

[0096] f.数据处理,QC,制备图和报告。

[0097] 具有II型胶原蛋白性关节炎的小鼠关节的组织病理学计分方法

[0098] 当对具有II型胶原蛋白性关节炎病变的小鼠的脚爪或踝进行计分时,必须考虑变化的严重程度以及受影响的个别关节的数目。当众多掌骨/跖骨/足趾或跗骨/胫跗关节可能性中仅脚爪或踝的1-3个关节受影响时,取决于变化的严重程度对以下参数(表3-6)给出最大计分为1、2或3的任意赋值。如果涉及多于3个关节,那么将以下准则(表3-6)应用于大多数关节中受最严重影响者。

[0099] 表3:发炎

[0100]

计分	描述
0	正常
1	发炎细胞于受影响关节的滑膜和关节周围组织中的极少浸润
2	发炎细胞的轻度浸润。如果提及脚爪，那么通常局限于受影响关节（1-3 个受影响）
3	中度浸润伴有中度水肿。如果提及脚爪，那么局限于受影响关节，通常 3-4 个关节+腕或踝
4	影响大部分区域的显著浸润，伴有显著水肿，可能存在 1 或 2 个未受影响的关节
5	重度弥漫性浸润伴有重度水肿，影响所有关节和关节周围组织

[0101] 表4:血管翳

[0102]

计分	描述
0	正常
1	血管翳于软骨和软骨下骨、边缘区中的极少浸润
2	轻度浸润伴有受影响关节中硬组织的边缘区破坏
3	中度浸润伴有受影响关节中的中度硬组织破坏
4	显著浸润伴有关节结构的显著破坏,影响大多数关节
5	重度浸润伴随有关节结构的完全或近乎完全破坏,影响所有关节

[0103] 表5:软骨损伤

[0104]

计分	描述
0	正常
1	极轻微：通常甲苯胺蓝染色的极小到轻度损失，在受影响关节中无明显软骨细胞损失或胶原蛋白破坏
2	轻度：通常甲苯胺蓝染色的轻度损失，在一些受影响关节中病灶区软骨细胞损失和/或胶原蛋白破坏
3	中度：通常甲苯胺蓝染色的中度损失，在受影响关节中多病灶软骨细胞损失和/或胶原蛋白破坏，一些基质残留于具有重度基质损失区域的任何受影响表面上
4	显著：甲苯胺蓝染色的显著损失，在大多数关节中多病灶显著（深度达到深层）软骨细胞损失和/或胶原蛋白破坏，如果是膝盖，那么一个表面具有完全到近乎完全的软骨损失
5	重度：甲苯胺蓝染色的重度弥漫性损失，在所有关节中多病灶重度（深度达到最大值）软骨细胞损失和/或胶原蛋白破坏，如果是膝盖，那么2个或2个以上表面具有完全到近乎完全的软骨损失

[0105] 表6:骨再吸收

[0106]

计分	描述
0	正常
1	极轻微：较小的再吸收区域，在低放大倍率下不易于观察，在受影响关节中破骨细胞稀少，局限于边缘区
2	轻度：更多再吸收区域，在低放大倍率下不易于观察，在受影响关节中破骨细胞更多，局限于边缘区
3	中度：髓质小梁和皮层骨的明显再吸收且不存在皮层的全厚度不足，一些髓质小梁损失，在低放大倍率下的病变可见，在受影响关节中破骨细胞更多
4	显著：皮层骨的全厚度不足，经常伴有其余皮层表面轮廓变形，显著髓骨损失，众多破骨细胞，影响大多数关节
5	重度：皮层骨的全厚度不足和所有关节的关节结构破坏

[0107] 对于各动物，测定所提交的6个关节中每一个的发炎、血管翳、软骨损伤和骨损伤计分。测定合计(所有6个关节)动物计分和六个关节平均动物计分，以及个别参数中每一个的总和及平均值。还将数据表示为脚爪(4个关节)或膝盖(2个关节)的平均值。随后将各组的参数与疾病对照动物相比较。

[0108] 统计分析

[0109] 通过测定研究第18-34天的给药曲线下面积(AUC)来分析脚爪计分的临床数据(动物的平均值)。为了计算AUC，将各小鼠的每天平均计分输入微软电子表格(Microsoft Excel)中且计算在疾病发作之后的处理日到最后一天之间的面积。测定各组的平均值，且通过比较处理和正常动物的值来计算相对于关节炎对照组的抑制百分比。使用史都登氏t试验进行临床和组织病理学数据的统计分析，其中显著性设定在$p \leq 0.05$。

[0110] 使用下式计算临床参数和AUC的抑制百分比：

[0111] 抑制%＝B/A×100，

[0112] 其中A＝疾病对照组平均值-正常组平均值

[0113] B＝处理组平均值-正常组平均值

[0114] 结果

[0115] 本研究评估经口每天一次投与的消炎剂在人类类风湿性关节炎的动物模型中的作用。结果表明，拉喹莫德和甲氨蝶呤的组合对类风湿性关节炎症状的作用显著大于单独各药剂的相加作用。

[0116] 与经媒剂处理的疾病对照组相比，因关节炎所致的体重减轻通过用1mg/kg拉喹莫德+MTX处理而得到显著抑制(62％抑制)。与经MTX处理的小鼠相比，本组的体重减轻也得到显著(69％)抑制。所有其它处理组的体重减轻与媒剂对照组没有显著不同。

[0117] 到研究第27天，经媒剂处理的疾病对照小鼠具有100％发病率。到研究第28天，用0.2mg/kg拉喹莫德处理的小鼠具有100％发病率。在研究终止时，用MTX、1mg/kg拉喹莫德或0.2mg/kg拉喹莫德+MTX处理的动物的发病率减小90％。发病率减小也在用5mg/kg拉喹莫德(70％发病率)或1mg/kg拉喹莫德+MTX(60％)处理的小鼠中看到。

[0118] 与媒剂对照组相比，用MTX(*第27-34天显著)、0.2mg/kg拉喹莫德(*第28-34天)、1mg/kg拉喹莫德(*第25-34天)、5mg/kg拉喹莫德(*第24-34天)、0.2mg/kg拉喹莫德+MTX(*第24-34天)或1mg/kg拉喹莫德+MTX(*第24-34天)处理的小鼠的每天临床关节炎计分显著降低。与仅用MTX处理的小鼠相比，通过用0.2mg/kg拉喹莫德+MTX(*第29-34天)或1mg/kg拉喹莫德+MTX(*第26-34天)处理，每天临床计分也显著降低。在媒剂对照组中疾病出现之前，用0.2mg/kg拉喹莫德(*第23天)、1mg/kg拉喹莫德(*第22-24天)或5mg/kg拉喹莫德(*第22-23天)处理的小鼠的每天临床关节炎计分显著升高。(图3)

[0119] 与媒剂对照组相比，用MTX(50％降低)、0.2mg/kg拉喹莫德(32％)、1mg/kg拉喹莫德(52％)、5mg/kg拉喹莫德(69％)、0.2mg/kg拉喹莫德+MTX(82％)或1mg/kg拉喹莫德+MTX(95％)处理的小鼠的以曲线下面积(AUC)表示的临床关节炎计分显著降低。与经MTX处理的小鼠相比，通过用0.2mg/kg拉喹莫德+MTX(65％)或1mg/kg拉喹莫德+MTX(90％)处理，临床关节炎计分AUC也显著降低。

[0120] 仅对第1-3、6和8组的小鼠进行抗TTC含量的血清分析。血清分析显示，媒剂对照小鼠具有27,062.50个单位/毫升的抗TTC含量。与媒剂对照组相比，通过用5mg/kg拉喹莫德、1mg/kg拉喹莫德+MTX或MTX处理，血清抗TTC含量没有受到显著影响。

[0121] 疾病对照动物在大多数关节中具有组织病理学变化，与在II型胶原蛋白诱发的关节炎中可见的组织病理学变化一致，其中计分从极轻微到重度变动。显微镜可见的变化包括嗜中性粒细胞和单核发炎性细胞(发炎)对滑膜和关节周围组织的浸润、边缘区血管翳和骨再吸收以及软骨损伤(蛋白聚糖损失、软骨细胞死亡和胶原蛋白基质破坏)。

[0122] 与媒剂对照组相比，用1mg/kg拉喹莫德(总计分的61％减少)、1mg/kg拉喹莫德+MTX(96％)或MTX(46％)处理的小鼠的所有脚爪组织病理学参数都趋向正常值显著减少。与经MTX处理的小鼠相比，用1mg/kg拉喹莫德+MTX处理也显著(93％)减少所有脚爪组织病理学参数。

[0123] 与媒剂对照组相比，用1mg/kg拉喹莫德+MTX(总计分的97％减少)处理的小鼠的所有膝盖组织病理学参数都趋向正常值显著减少。与经MTX处理的小鼠相比，本组的处理也显著(95％)减少所有膝盖组织病理学参数。与媒剂对照组相比，用1mg/kg拉喹莫德处理显著

减少膝盖发炎(51％减少)、血管翳(59％)、软骨损伤(62％)和总膝盖计分(57％)。

[0124] 与媒剂对照组相比，用1mg/kg拉喹莫德(总计分的60％减少)、1mg/kg拉喹莫德+MTX(96％)或MTX(43％)处理的小鼠的所有六个关节的平均组织病理学参数都趋向正常值显著减少。与经MTX处理的小鼠相比，用1mg/kg拉喹莫德+MTX处理也显著(93％)减少所有六个关节的组织病理学参数。(图1和2)

[0125] 如图1和2中所示，与对照组、仅甲氨蝶呤处理组和仅拉喹莫德处理组相比，与甲氨蝶呤组合投与拉喹莫德显著降低DBA/101aHsd小鼠的六个关节(四个脚爪和两个膝盖)上与类风湿性关节炎相关的各种症状(包括发炎、血管翳、软骨损伤和骨再吸收)的严重程度。

[0126] 图1展示，与甲氨蝶呤组合投与拉喹莫德实质上消除了试验个体的六个关节中的血管翳和骨损伤，降低其平均计分到接近零。图2展示，与甲氨蝶呤组合投与拉喹莫德实质上消除了试验个体中的与类风湿性关节炎相关的全部症状，降低其累积计分96％。

[0127] 因此，这些结果显示，与甲氨蝶呤组合投与拉喹莫德在治疗罹患活动性类风湿性关节炎的个体方面比各药剂单独投与时实质上更有效。本发明人已令人惊讶地发现，拉喹莫德和甲氨蝶呤在治疗活动性类风湿性关节炎中协同地起作用。

[0128] 参考文献

[0129] 1.“类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis)”(1999)默克手册(The Merck Manual)，第7版，第416-423页。

[0130] 2.0130282 99506202.在健康志愿者和多发性硬化症患者中进行ABR-215062相较于安慰剂的双盲、随机、重复剂量、剂量递增研究(A double blind,randomized,repeat-dose,dose escalation study of ABR-215062 versus placebo in healthy volunteers and patients with multiple sclerosis).活性生物技术研究AB(Active Biotech Research AB)，瑞典(Sweden).最终临床试验报告(Final Clinical Trial Report)，2002年1月。

[0131] 3.03506207.有关拉喹莫德(ABR-215062)在多发性硬化症患者中的开放式安全性研究(An open safety study on laquinimod(ABR-215062)in patients with multiple sclerosis).活性生物技术研究AB(Active Biotech Research AB)，瑞典(Sweden).最终临床试验报告(Final Clinical Trial Report)，2007年4月。

[0132] 4.0430067 275-1061-01.测定ABR-212616、ABR-215050、ABR-215062和ABR-215757对冷冻保存的人类肝细胞中的CYP1A2和CYP3A4的活性的作用(Determination of the effects of ABR-212616,ABR-215050,ABR-215062 and ABR-215757on the activities of CYP1A2 and CYP3A4 in cryopreserved human hepatocytes).体外技术(In Vitro Technologies)，美国(USA).最终报告(Final Report)，2004年2月。

[0133] 5.0430518 275-1081-02.测定ABR-215062对冷冻保存的人类肝细胞中的CYP1A2和CYP3A4的作用(Determination of the effects of ABR-215062 on CYP1A2 and CYP3A4 in cryopreserved human hepatocytes).体外技术(In Vitro Technologies)，美国(USA).最终报告(Final Report)，2004年8月。

[0134] 6.9830089.PNU-215045、PNU-215062:细胞色素P450酶在雌性史泊格多利大鼠中的作用(PNU-215045,PNU-215062:Effects on cytochrome P450 enzymes in female Sprague Dawley rats).隆德研究中心AB(Lund Research Center AB)，活性生物技术集团

(Active Biotech Group),瑞典(Sweden).最终报告(Final Report),1998年11月。

[0135] 7.9830133.PNU-215062:细胞色素P450酶在雌性史泊格多利大鼠中的作用(PNU-215062:Effects on cytochrome P450 enzymes in female Sprague Dawley rats).隆德研究中心AB(Lund Research Center AB),活性生物技术集团(Active Biotech Group),瑞典(Sweden).最终报告(Final Report),1998年11月。

[0136] 8.在健康个体中进行两阶段、开放标记、单一顺序交叉研究以评估氟康唑对拉喹莫德药物动力学的潜在相互作用(A two-period,open-label,one-sequence crossover study in healthy subjects to assess the potential interaction of fluconazole on laquinimod pharmacokinetics).PRACS塞特罗研究学会(PRACS Institute Cetero Research)北达科他州(ND),美国(USA).最终报告(Final Report),2009年6月。

[0137] 9.阿内特F(Arnett F),埃德沃斯S(Edworthy S),布洛赫D(Bloch D),麦克沙恩D(McShane D),弗瑞斯J(Fries J),库柏N(Cooper N),希利L(Healey L),卡普兰S(Kaplan S),梁M(Liang M),卢瑟H(Luthra H)(1988)“美国风湿病协会1987年修订的类风湿性关节炎分类准则(The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis)”.关节炎与风湿病(Arthritis Rheum).31(3):315-24。

[0138] 10.巴克AC(Bakker,AC),茱斯顿LAB(Joosten LAB),阿恩茨OJ(Arntz OJ),赫尔森MA(Helsen MA),本德勒AM(Bendele AM),范德卢AJ(van de Loo AJ),范登伯格WB(van den Berg WB).鼠类胶原蛋白诱发的关节炎的基因疗法:人类白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白的局部表达将预防发病(Gene therapy of murine collagen-induced arthritis:local expression of the human interleukin-1receptor antagonist protein prevents onset).关节炎与风湿病(Arthritis Rheum).1997;40:893-900,1997。

[0139] 11.本德勒A.M.(Bendele,A.M.)(2001)“类风湿性关节炎的动物模型(Animal Models of Rheumatoid Arthritis)”肌骨与神经元互相作用杂志(J Musculoskel Neuron Interact),1(4):377-385。

[0140] 12.盖革T(Geiger T),吐宾H.(Twobin H.),康森替-瓦格斯A(Consenti-vargas A),金吉尔O(Zingel O),阿诺德J(Arnold J),罗多夫C(Rordorf C),格拉特M(Glatt M),沃斯贝克K(Vosbeck K).用单克隆抗体在体内中和白细胞介素-1B活性减轻DBA/1小鼠中胶原蛋白诱发的关节炎且预防相关急性期反应(Neutralization of interleukin-1B activity in vivo with a monoclonal antibody alleviates collagen-induced arthritis in DBA/1mice and prevents the associated acute phase response).临床与实验风湿病学(Clin Exp Rheumatol).1993;11:515-522。

[0141] 13.霍姆J(Hom J),本德勒AM(Bendele AM),卡尔松D(Carlsson D).体内投与IL-1加速小鼠中胶原蛋白诱发的关节炎的发展(In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice).免疫学杂志(JImmunol).9188;141:834-841。

[0142] 14.霍姆J(Hom J),格里斯恩斯基VL(Gliszcznski VL),科尔HW(Cole HW),本德勒AM(Bendele AM).白细胞介素-1介导的II型胶原蛋白诱发的关节炎加速:消炎或抗关节炎药物的作用(Interleukin-1 mediated acceleration of type II collagen-induced

arthritis:Effects of anti-inflammatory or anti-arthritic drugs).药剂与作用(Agents Actions).1991;33:300-309。

[0143] 15.茱斯顿LAB(Joosten LAB),赫尔森MMA(Helsen MMA),范德卢FAJ(van de Loo FAJ)和范登伯格WB(van den Berg WB).用抗IL-1改善确定的II型胶原蛋白诱发的关节炎(CIA)(Amelioration of established type II collagen-induced arthritis(CIA)with anti-IL-1).药剂与作用(Agents Actions).1994;41:C174-C176。

[0144] 16.茱斯顿LAB(Joosten LAB),赫尔森MMA(Helsen MMA),范德卢FAJ(van de Loo FAJ)和范登伯格WB(van den Berg WB).抗细胞因子治疗DBA/1小鼠的确定的II型胶原蛋白诱发的关节炎(Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice).关节炎与风湿病(Arthritis Rheum).1996;39:797-809。

[0145] 17.PCT国际申请公开案第WO 2007/047863号,2007年4月26日公开,国际申请日期2006年10月18日。

[0146] 18.PCT国际申请公开案第WO 2007/146248号,2007年12月21日公开,国际申请日期2007年6月12日。

[0147] 19.波尔曼C.(Polman,C.)等人,(2005)“用拉喹莫德治疗来减少复发性MS中活动性MRI病变的发展(Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS)”,神经病学(Neurology).64:987-991。

[0148] 20.桑德伯格-沃尔海姆M(Sandberg-Wollheim M)等人(2005)“在患者中用高剂量的口服拉喹莫德的48周开放式安全性研究(48-week open safety study with high-dose oral laquinimod in patients)”,多发性硬化症(Mult Scler).11:S154(摘要)。

[0149] 21.TQT-LAQ-122.在健康男性和女性中进行双盲、随机、平行组、完全QT/QTc试验以评估使用临床和超治疗剂量的拉喹莫德相较于安慰剂对心脏复极化的作用,其中莫西沙星用作阳性对照物(A Double-Blind,Randomized,Parallel Group,Thorough QT/QTc Trial in Healthy Men and Women to Assess the Effect of Laquinimod on Cardiac Repolarization Using a Clinical and a Supratherapeutic Dose Compared to Placebo,with Moxifloxacin as a Positive Control).PRACS塞特罗研究学会(PRACS Institute Cetero Research)北达科他州(ND),美国(USA).最终报告(Final Report),2009年6月。

[0150] 22.特伦特姆DE(Trentham DE),汤斯AS(Townes AS),康AH(Kang AH).对II型胶原蛋白的自体免疫性:关节炎的实验模型(Autoimmunity to type II collagen:an experimental model of arthritis).实验医学杂志(J Exp Med).1977;146(3):857-868。

[0151] 23.美国专利第6,077,851号,2000年6月20日颁予比约克(Bjork)等人。

[0152] 24.伍利PH(Wooley PH),惠伦JD(Whalen JD),查普曼DL(Chapman DL),伯杰AE(Berger AE),理查德KA(Richard KA),阿斯帕DG(Aspar DG)和斯代特ND(Staite ND).白细胞介素-1受体拮抗剂蛋白对小鼠中的II型胶原蛋白诱发的关节炎和抗原诱发的关节炎的作用(The effect of an interleukin-1 receptor antagonist protein on type II collagen-induced arthritis and antigen-induced arthritis in mice).关节炎与风湿病(Arthritis Rheum).1993;36:1305-1314。

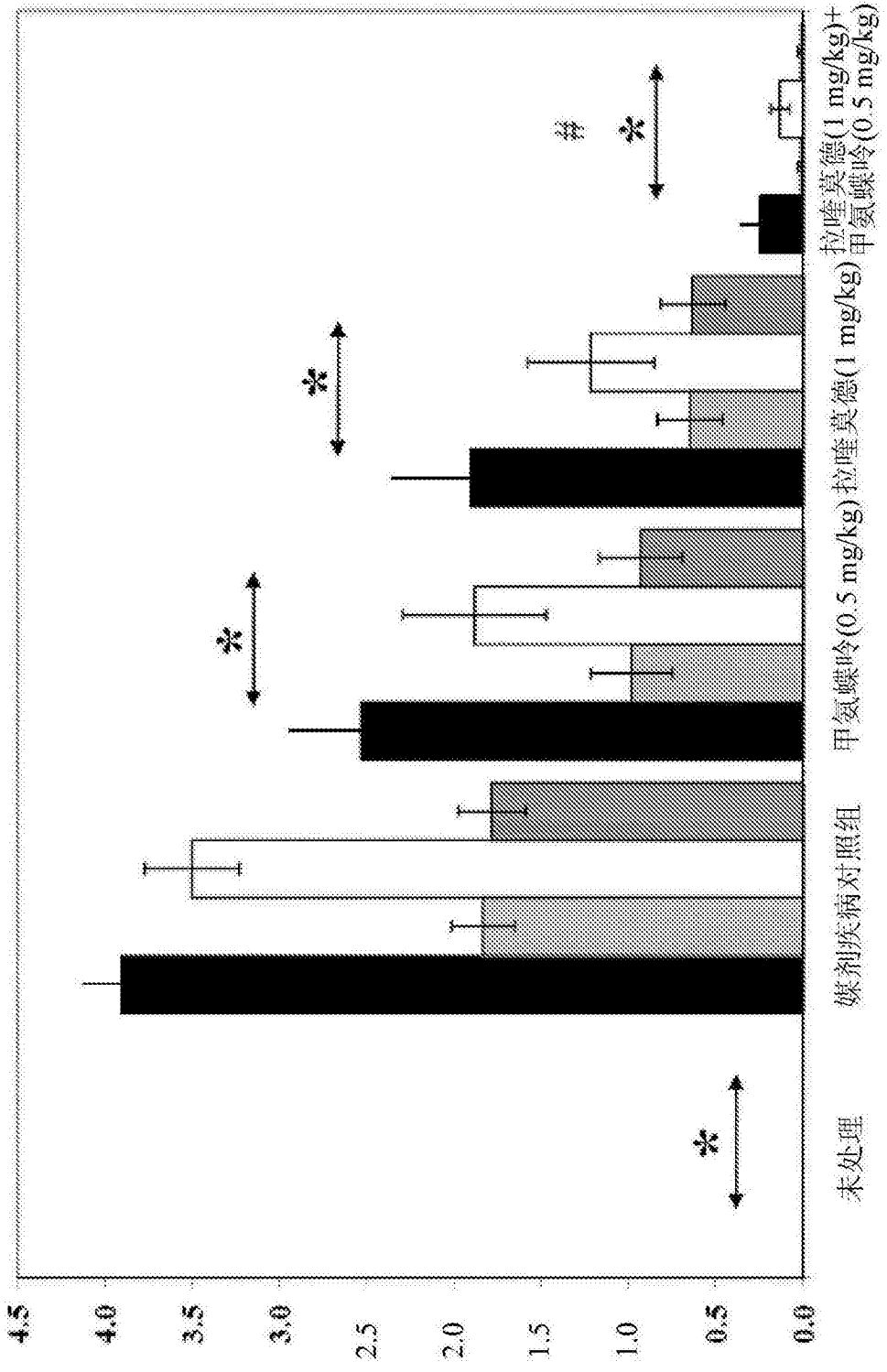

4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
未处理
蝶剂疾病对照组
甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)+甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
处理组
*
*
*
##

图1

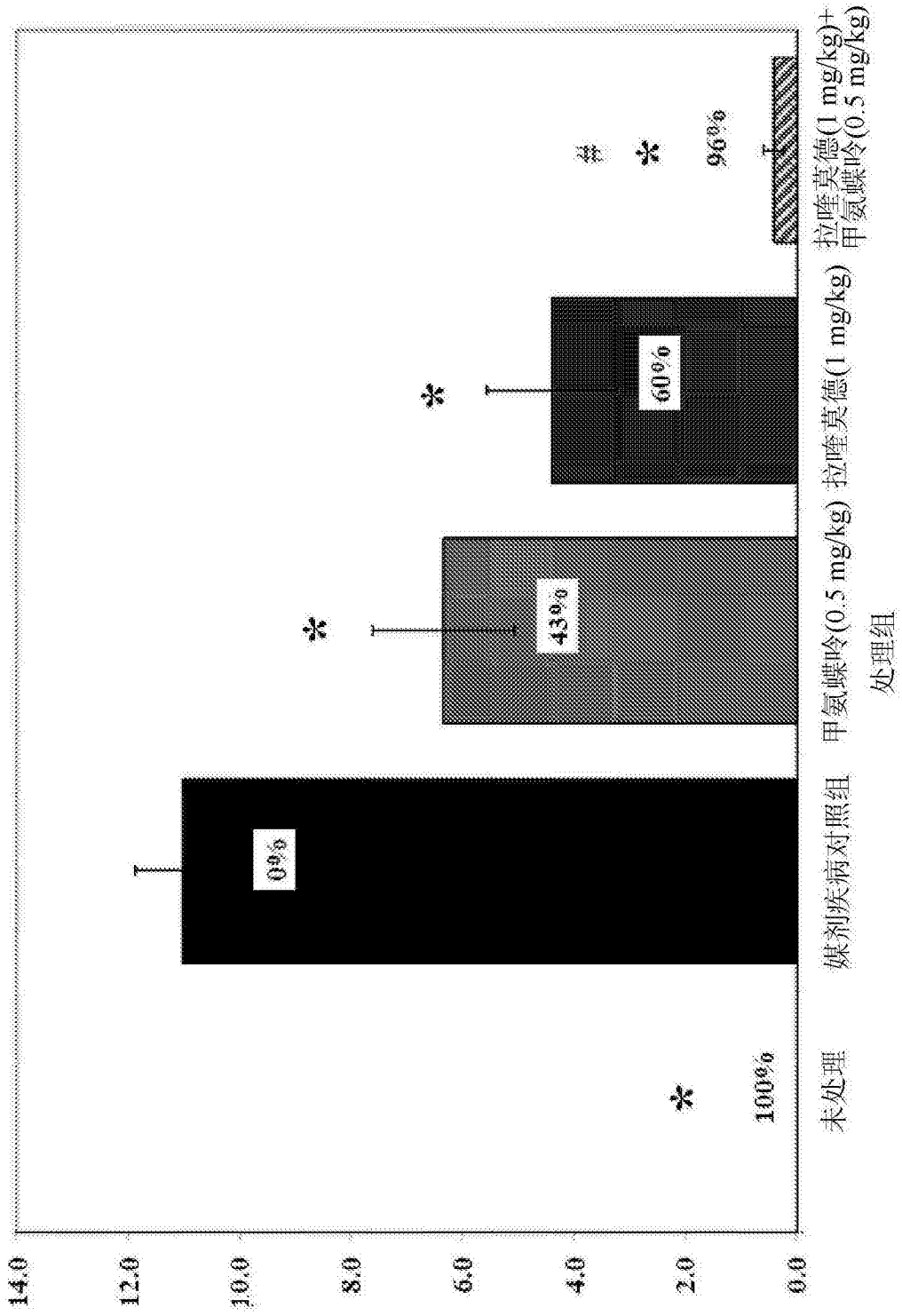

14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
100%
0%
43%
60%
96%
未处理
媒剂疾病对照组
甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)+甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
处理组

图2

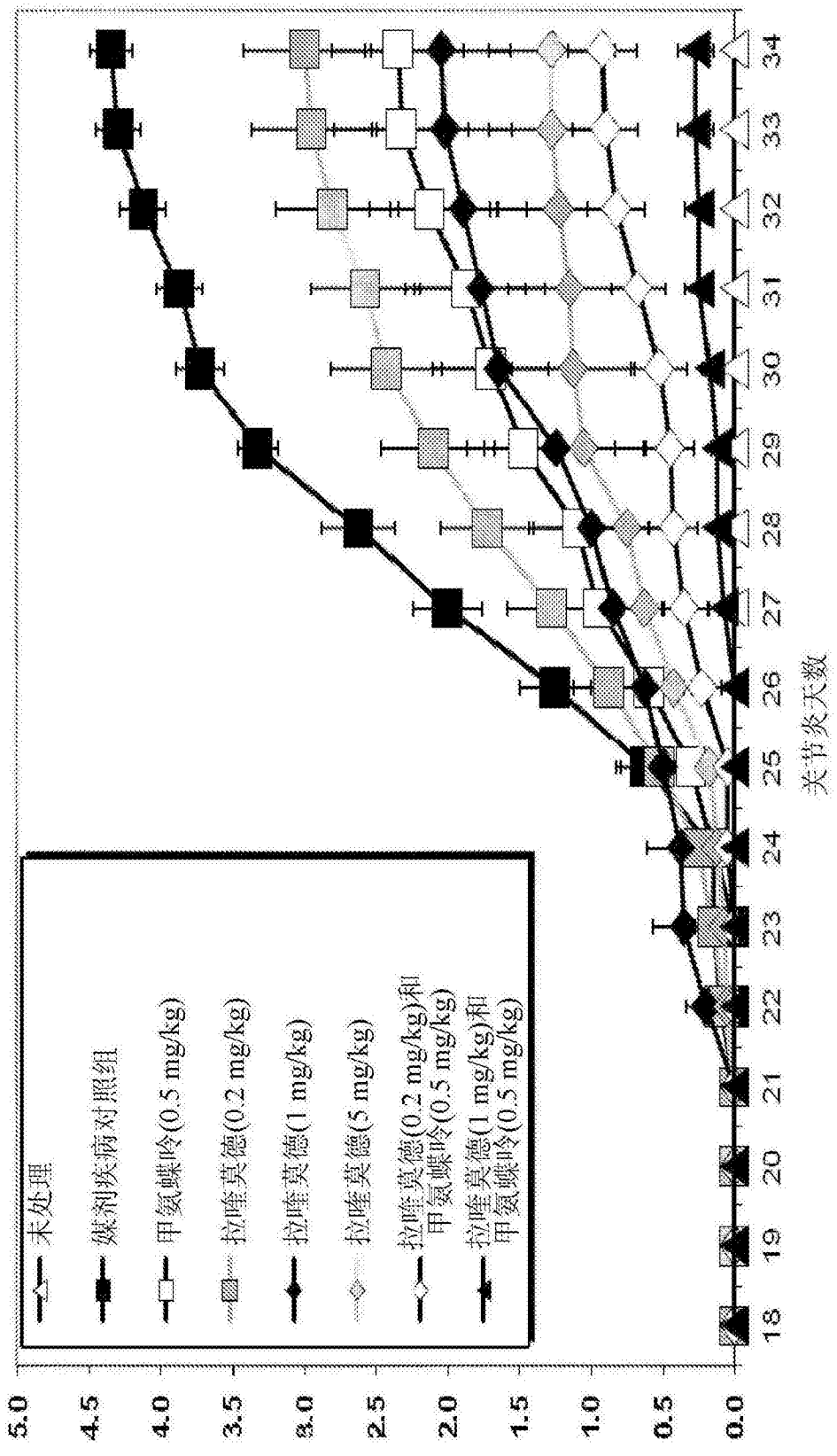

未处理
媒剂疾病对照组
甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
拉喹莫德(0.2 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)
拉喹莫德(5 mg/kg)
拉喹莫德(0.2 mg/kg)和甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
拉喹莫德(1 mg/kg)和甲氨蝶呤(0.5 mg/kg)
关节炎天数
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

图3