



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0014523  
(43) 공개일자 2013년02월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 31/47* (2006.01) *A61K 31/42* (2006.01)  
*A61P 19/02* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2012-7025006

(22) 출원일자(국제) 2011년03월02일  
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2012년09월24일

(86) 국제출원번호 PCT/US2011/026885

(87) 국제공개번호 WO 2011/109531  
국제공개일자 2011년09월09일

(30) 우선권주장  
61/339,375 2010년03월03일 미국(US)

(71) 출원인  
테바 파마슈티컬 인더스트리즈 리미티드  
이스라엘 파타크-티크바 49131 페.오.박스 3190  
바젤 스트리트 5

(72) 발명자  
블라우그룬드, 에란  
이스라엘 76449 레호보트 레메즈 스트리트 94  
다식, 노라  
이스라엘 모데인 미그달 데이비드 29/1  
카예, 조엘  
이스라엘 네타니아 하자미르 스트리트 14/5

(74) 대리인  
특허법인아주양현

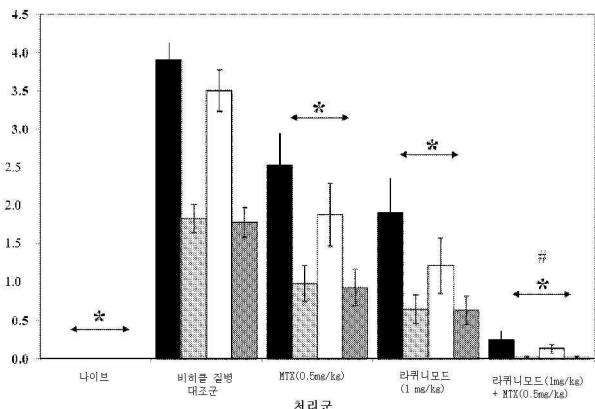
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 라퀴니모드 및 메토트렉세이트의 병용에 의한 류마티스 관절염의 치료

### (57) 요 약

본 발명은 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 피험자에게 정기적으로 투여하는 단계를 포함하는 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 방법을 제공하되, 해당 양을 함께 취할 때 피험자를 치료하는데 효과적이다. 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에서 메토트렉세이트와 조합하여 사용하기 위한 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다. 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 사용을 위해 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

### 대 표 도 - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 피험자에게 정기적으로 투여하는 단계를 포함하되, 함께 취할 때 상기 양들은 상기 피험자를 치료하기에 효과적인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 라퀴니모드의 상기 양 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 상기 양 및 메토트렉세이트의 상기 양을 함께 취할 때가 각 약제를 단독으로 투여할 때보다 상기 피험자를 치료하는 것에 더 효과적인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 상기 양 및 메토트렉세이트의 상기 양은 함께 취할 때가 상기 피험자에서 류마티스 관절염의 임상적 증상을 감소시키는 것에 효과적인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드의 상기 약제학적으로 허용가능한 염은 라퀴니모드 나트륨인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 상기 정기적 투여는 경구로 달성되는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 투여되는 라퀴니모드의 상기 양은 0.0005mg/kg/일 내지 10mg/kg/일인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드의 상기 양은 0.1mg/일 내지 2.0 mg/일인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 경구로 달성되는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 메토트렉세이트의 상기 양은 0.02 mg/kg/일 내지 1.0 mg/kg/일인 것은, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 메토트렉세이트의 상기 양은 1 mg/일 내지 3 mg/일인 것은, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 비스테로이드성 항염증 약물(nonsteroidal anti-inflammatory drug: NSAID) 및 살리실레이트, 지효성 약물, 금 화합물, 하이드록시클로로퀸, 설파살라진, 지효성 약물의

조합, 코르티코스테로이드, 및 세포독성 또는 면역억제 약물 및/또는 항체의 투여를 더 포함하는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상을 제거하는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상의 중증도를 감소시키는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상에 의해 발생한 관절의 수를 감소시키는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 증상은 염증인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 16

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 증상은 판누스(pannus) 조직의 형성인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 17

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 증상은 연골 손상인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 18

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 증상은 뼈 흡수인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 상기 피험자에서 단백뇨를 감소시키는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 20

제19항에 있어서, 단백뇨 감소는 24시간 요단백, 24시간 단백질 대 크레아티닌 비, 스팟 단백질 대 크레아티닌 비, 24시간 요 알부민, 24시간 알부민 대 크레아티닌 비, 스팟 알부민 대 크레아티닌 비에 의해, 또는 소변 딥스틱(dipstick)에 의해 측정된 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 상기 정기적 투여는 소변 침전물을 제거하는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 단독으로 취할 때 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용 가능한 염의 상기 양, 및 단독으로 취할 때 메토트렉세이트의 상기 양은 상기 피험자를 치료하는 것에 효과적인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 23

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 단독으로 취할 때 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양, 단독으로 취할 때 메토트렉세이트의 상기 양, 또는 단독으로 취할 때 각각의 이러한 양 중 하나는 상기 피험자에게 효과적이지 않은 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 피험자는 라퀴니모드 치료를 개시하기 전 메토트렉세이트 치료를 받는 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 피험자는 포유류인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 26

제25항에 있어서, 상기 포유류는 인간인 것인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자의 치료방법.

### 청구항 27

류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 메토트렉세이트와 조합하여 사용하기 위한 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염.

### 청구항 28

류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 사용을 위한 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 포함하는 약제학적 조성물.

## 명세서

### 기술분야

[0001]

본 출원은 2010년 3월 3일 출원된 미국 가특허출원 제61/339,375호의 우선권을 주장하며, 이 기초출원은 그의 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0002]

본 출원을 통해, 제1 저자 및 공개 년도에 의해 다양한 간행물이 언급된다. 이 간행물에 대한 모든 인용은 특허 청구범위 바로 전 참고문헌 부분에서 제시된다. 참고문헌 부분에서 그의 전문이 인용된 간행물의 개시는 본 명세서에서 설명되는 발명의 출원일 현재 본 기술의 언급을 더 완전하게 설명하기 위하여 본 출원에 참조로 포함된다.

### 배경기술

[0003]

류마티스 관절염

[0004]

류마티스 관절염(RA)은 비특이적인, 보통 연결부의 대칭적 염증을 특징으로 하며, 일반화된 정후와 함께 또는 일반화된 정후 없이 관절과 관절 주위 구조의 진행성 파괴를 잠재적으로 초래하는 만성 종후군이다. 그의 정확한 병인론은 아직 결정되지 않았지만, 유전적 소인은 결정되었다. 추가로, 환경적 인자가 역할을 하는 것으로 생각된다.(The Merck Manual, 7th Ed.)

[0005]

문헌[American College of Rheumatology(1987)]에 따르면, 질환이 류마티스 관절염으로 분류되기 전 적어도 4개의 다음 기준이 충족되었다(Arnett, 1988): 1) 적어도 6주 동안 대부분의 아침에 1시간 초과의 조조경직(morning stiffness); 2) 14개의 관절들/관절 그룹 중 3초과의 관절 및 연조직 팽창; 3) 적어도 6주 동안 존재하는 손 관절의 관절염; 4) 적어도 6주 동안 존재하는 전신 관절염; 5) 특정 위치에서 피하결절; 6) 95 퍼센타

일 초과의 수준으로 류마티스 인자; 및 7) 관절 부식의 방사선 변화.

[0006] 류마티스 관절염에 대한 어떤 알려진 치료법은 없지만, 다수의 상이한 유형의 치료가 증상을 완화하고 및/또는 질병 과정을 변형시키는데 이용가능하다. RA의 약리학적 치료는 비스테로이드성 항염증 약물(nonsteroidal anti-inflammatory drug: NSAID) 및 살리실레이트, 지효성 약물, 금 화합물, 하이드록시클로로퀸, 셀파살라진, 지효성 약물의 조합, 코르티코스테로이드, 및 세포독성 또는 면역억제 약물을 포함한다. 다른 형태의 치료는 휴식, 영양섭취, 물리치료 및 수술을 포함한다.(The Merck Manual, 7<sup>th</sup> Ed.)

#### 라퀴니모드

[0008] 라퀴니모드는 다발성 경화증(MS)의 치료를 위한 경구 조제물로서 제안된 높은 경구 생체이용률을 가지는 신규한 합성 화합물이다(Polman, 2005; Sandberg-Wollheim, 2005). 라퀴니모드 및 그의 염 형태는, 예를 들어 미국특허 제6,077,851호에서 설명된다. 류마티스 관절염 상에서 메토트렉세이트와 병용된 라퀴니모드의 효과는 보고되지 않았다.

#### 메토트렉세이트

[0010] 메토트렉세이트(MTX)는 암 및 자가면역질병의 치료에 사용되는 항대사물질 약물이다. 이는 다이하이드로글레이트 환원효소의 억제를 통해 폴산의 대사를 억제함으로써 작용하고, 빠르게 증식 세포 내 DNA 합성을 차단한다. 이 작용은 면역억제를 유발한다.

[0011] MTX는 상표명 Rheumatrex(등록상표) 및 Trexall(상표명) 하에 시판된다. Rheumatrex(등록상표) 및 Trexall(상표명)은 특정 종류의 암, 전선 및 류마티스 관절염을 치료하는 것으로 표시된다.

[0012] MTX를 포함하는 세포독성/면역억제 약물은 중증의 활성 RA에 대해 증가적으로 사용된다. 이 약물은 염증을 억제 할 수 있고, 코르티코스테로이드 용량을 감소시킬 수 있다.(The Merck Manual, 7<sup>th</sup> Ed.)

[0013] 인간에서 중증의 류마티스 관절염에 대해 추천되는 투약량(합의됨)은: 초기에 10 내지 15 mg 경구로 1주일에 1회, 2 내지 3주마다 5 mg/주로, 최대 20 내지 30 mg/주까지 증가된다. 인간에서 중증의 류마티스 관절염에 대해 제조업자의 추천 투약량은: 초기에 7.5 mg 경구로 1주일에 1회 또는 1주일에 1회 3용량에 대해 12시간 마다 2.5 mg 경구로 최대 20 mg/주까지이다.(Physicians' Desk Reference)

#### 병용 치료

[0015] 주어진 질환, 예컨대 류마티스 관절염을 치료하기 위한 2가지 약물의 투여는 다수의 잠재적 문제를 일으킨다. 2 가지 약물 사이의 생체 내 상호작용은 복합체이다. 임의의 단일 약물의 효과는 그의 흡수, 분포 및 제거와 관련된다. 2가지 약물이 신체에 도입될 때, 각 약물은 나머지 약물의 흡수, 분포 및 제거에 영향을 미칠 수 있고, 따라서 서로의 효과를 변경할 수 있다. 예를 들어, 한 약물은 나머지 약물의 대사 경로에 수반된 효소의 생성을 억제하고, 활성화하거나 유발할 수 있다(Guidance for Industry, 1999). 따라서, 2가지 약물이 동일 질환을 치료하기 위하여 투여될 때, 각각이 인간 피험자에서 나머지 약물의 치료적 활성을 보완하는지, 어떤 영향을 미치지 않는지, 또는 방해하는지 여부는 예측가능하지 않다.

[0016] 두 약물 사이의 상호작용은 각 약물의 의도된 치료적 활성을 미칠 수 있을 뿐만 아니라, 해당 상호작용은 독성 대사물질의 수준을 증가시킬 수 있다(Guidance for Industry, 1999). 상호작용은 또한 각 약물의 부작용을 고조시키거나 줄일 수 있다. 따라서, 질병을 치료하기 위해 두 약물의 투여 시, 각 약물의 부정적 측면의 프로파일에서 변화가 일어나는 것은 예측가능하지 않다.

[0017] 추가로, 두 약물 사이의 상호작용의 효과가 분명해질 때 정확히 예측하는 것은 어렵다. 예를 들어, 약물 사이의 대사 상호작용은 두 가지가 정상상태 농도에 도달한 후 또는 약물 중 하나가 불연속일 때, 제2 약물의 초기 투여 시 명백하게 될 수 있다(Guidance for Industry, 1999).

#### 발명의 내용

[0018] 본 발명은 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 피험자에게 정기적으로 투여하는 단계를 포함하되, 함께 취할 때 양은 피험자를 치료하기에 효과적인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 방법을 제공한다.

[0019] 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 메토트렉세이트와 조합하여 사용하기 위한 라

퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

- [0020] 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 사용을 위해 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

### 도면의 간단한 설명

- [0021] **도 1:** 도 1은 개개의 병리조직학적 변수(6개 관절)의 그래프: 대조군 및 처리군 내 각 병리조직학적 변수에 대한 (6개 관절의) 평균 스코어를 나타내는 막대그래프. ("LAQ"는 라퀴니모드를 표시하고, "MTX"는 메토트렉세이트를 표시한다) (\*  $p \leq 0.05$  비히클에 대한 스튜던트 t-테스트(student's t-test), # $p \leq 0.05$  비히클에 대한 스튜던트 t-테스트, n=10/처리군, n=4/보통의 대조군) y-축은 평균±SE 개개의 병리조직학적 변수를 나타낸다(6개 관절)(스코어: 0 = 정상, 1 = 최소, 2 = 경증, 3 = 보통, 4 = 현저함, 및 5 = 중증)

각 처리군에서 가장 왼쪽의 막대(검정색)는 염증을 나타낸다. 각 처리군에서 왼쪽으로부터 두 번째 막대(밝은 회색)는 판누스(pannus)를 나타낸다. 각 처리군에서 왼쪽으로부터 세 번째 막대(흰색)는 연골 손상을 나타내며, 각 처리군에서 왼쪽으로부터 네 번째 막대(진한 회색)는 뼈 손상을 나타낸다.

**도 2:** 도 2는 6개 관절 동물 스코어의 그래프: 6개 관절 동물 스코어의 그래프: 대조군 및 처리군에서 총 스코어(개개의 조직병리학적 변수 내 스코어의 합)를 나타내는 막대그래프. ("LAQ"는 라퀴니모드를 표시하고, "MTX"는 메토트렉세이트를 표시한다)(\* $p \leq 0.05$  비히클에 대한 스튜던트 t-테스트, # $p \leq 0.05$  비히클에 대한 스튜던트 t-테스트, n=10/처리군, n=4/보통의 대조군) y-축은 평균±SE 6개 관절 동물 스코어를 나타낸다(개개 변수의 합).

**도 3:** 도 3은 각 처리 팔에서 임상적 관절염 스코어 진행을 나타낸다(스코어 0 내지 5). (\* $p \leq 0.05$  비히클에 대한 스튜던트 t-테스트, # $p \leq 0.05$  MTX에 대한 스튜던트 t-테스트, n=10/처리군, n=4/보통의 대조군) y-축은 평균±SE 임상적 관절염 스코어를 나타낸다(0 내지 5초).

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 본 발명은 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 피험자에게 정기적으로 투여하는 단계를 포함하되, 함께 취할 때 해당 양은 피험자를 치료하기에 효과적인, 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 방법을 제공한다.

- [0023] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양은 함께 취할 때가 각 약제를 단독으로 투여할 때보다 피험자를 치료하는데 더 효과적이다.

- [0024] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양은 함께 취할 때 피험자에서 류마티스 관절염의 임상적 증상을 감소시키는데 효과적이다. 다른 실시형태에서, 라퀴니모드의 약제학적으로 허용가능한 염은 라퀴니모드 나트륨이다.

- [0025] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 정기적 투여는 경구로 달성된다. 다른 실시형태에서, 투여된 라퀴니모드의 양은 0.0005mg/kg/일 내지 10 mg/kg/일이다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 라퀴니모드의 양은 0.1mg/일 내지 2.0 mg/일이다.

- [0026] 한 실시형태에서, 메토트렉세이트의 정기적 투여는 경구로 달성된다. 다른 실시형태에서, 투여된 메토트렉세이트의 양은 0.02mg/kg/일 내지 1.0 mg/kg/일이다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 메토트렉세이트의 양은 1mg/일 내지 3 mg/일이다.

- [0027] 한 실시형태에서, 본 방법은 비스테로이드성 항염증 약물(NSAID), 살리실레이트, 지효성 약물, 금 화합물, 하이드록시클로로퀸, 설파살라진, 지효성 약물의 조합, 코르티코스테로이드, 사이토톡신 약물, 면역억제 약물 및/또는 항체의 투여를 추가로 포함한다.

- [0028] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상을 실질적으로 제거한다. 다른 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상의 중증도를 감소시킨다. 또 다른 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 정기적 투여는 류마티스 관절염과 관련된 증상에 의해 발생한 관절의 수를 감소시킨다.

- [0029] 한 실시형태에서, 증상은 염증이다. 다른 실시형태에서, 증상은 판누스 조직의 형성이다. 다른 실시형태에서,

증상은 연골 손상이다. 다른 실시형태에서, 증상은 뼈 흡수이다.

[0030] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 정기적 투여는 피험자에서 단백뇨를 감소시킨다. 다른 실시형태에서, 단백뇨 감소는 24시간 요단백, 24시간 단백질 대 크레아티닌 비, 스팟 단백질 대 크레아티닌 비, 24시간 요 알부민, 24시간 알부민 대 크레아티닌 비, 스팟 알부민 대 크레아티닌 비에 의해, 또는 소변 딥스틱(dipstick)에 의해 측정된다. 또 다른 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 및 메토트렉세이트의 정기적 투여는 소변 침전물을 제거한다.

[0031] 한 실시형태에서, 각각의 단독으로 취할 때 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양, 및 단독으로 취할 때 메토트렉세이트의 양은 피험자를 치료하기에 효과적이다. 다른 실시형태에서, 단독으로 취할 때 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양, 단독으로 취할 때 메토트렉세이트의 양, 또는 단독으로 취할 때 각각의 이러한 양 중 하나는 피험자를 치료하기에 효과적이지 않다.

[0032] 한 실시형태에서, 피험자는 라퀴니모드 치료를 개시하기 전에 메토트렉세이트를 받는다. 다른 실시형태에서, 피험자는 정기적 라퀴니모드 투여를 개시하기 전에 정기적 메토트렉세이트 투여를 개시한다.

[0033] 한 실시형태에서, 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여는 메토트렉세이트의 투여에 실질적으로 선행한다. 다른 실시형태에서, 메토트렉세이트의 투여는 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 투여에 실질적으로 선행한다.

[0034] 한 실시형태에서, 피험자는 포유류이다. 다른 실시형태에서, 포유류는 인간이다.

[0035] 본 발명은 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 피험자에게 정기적으로 투여하는 단계를 포함하는 류마티스 관절염에 걸린 피험자에서 류마티스 관절염을 치료하는 방법을 제공하되, 함께 취할 때 해당 양은 피험자에서 류마티스 관절염을 치료하기에 효과적이다.

[0036] 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에서 메토트렉세이트와 조합하여 사용하기 위한 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0037] 본 발명은 또한 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 사용하기 위한 라퀴니모드 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 양 및 메토트렉세이트의 양을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0038] 앞서 언급한 실시형태에 대해, 본 명세서에 개시된 각 실시형태는 각각의 다른 개시된 실시형태에 적용가능하게 되는 것으로 생각된다.

[0039] 변수 범위는 그 범위 내의 모든 정수로 제공되며, 및 그의 1/10이 또한 본 발명에 의해 제공되는 것으로 이해된다. 예를 들어, “0.2mg/kg/일 내지 5 mg/kg/일”은 0.2 mg/kg/일, 0.3 mg/kg/일, 0.4 mg/kg/일, 0.5 mg/kg/일, 0.6 mg/kg/일 등, 5.0 mg/kg/일까지를 포함한다.

[0040] 각 약제 단독보다 더 효능 있는 치료를 제공하는 메토트렉세이트와 함께 라퀴니모드를 사용하는 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 방법에 개시된다. 본 발명에 따라서, 메토트렉세이트와 함께 라퀴니모드의 투여는 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하기 위한 병용에서 특히 효과적이다.

#### 용어

[0042] 본 명세서에서와 같이, 달리 언급되지 않는다면, 각각의 다른 용어는 이하에 설명하는 정의를 가진다.

[0043] 본 명세서에서 사용되는, “라퀴니모드”는 라퀴니모드산 또는 그의 약제학적 염을 의미한다.

[0044] 본 명세서에서 사용되는, “류마티스 관절염에 걸린 피험자”는 류마티스 관절염을 가지는 것으로 확정적으로 진단된 피험자를 의미한다.

[0045] 본 명세서에서 사용되는 밀리그램으로 측정한 라퀴니모드의 “양” 또는 “용량”은 제제 형태에도 불구하고 제제 내 존재하는 라퀴니모드산의 밀리그램을 말한다.

[0046] 본 명세서에서 사용되는 라퀴니모드 및/또는 메토트렉세이트의 양을 말할 때 “효과적인”은 본 발명의 방식에서 사용될 때 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 과도한 부작용(예컨대, 독성, 자극 또는 알레르기 반응) 없이 원하는 치료적 반응을 얻기에 충분한 라퀴니모드 및/또는 메토트렉세이트의 양을 말한다.

[0047] 본 명세서에서 사용되는 류마티스 관절염과 관련된 증상을 “실질적으로 제거하는”은 적어도 96%로 그 증상의 발생을 감소시키는 것을 의미한다.

- [0048] 본 명세서에서 사용되는 "치료하는"은, 예를 들어 장애의 억제, 퇴보, 또는 정체를 유발하고, 또는 장애의 중증도를 줄이고, 억누르고, 억제하고 감소시키고, 또는 장애의 증상을 제거하거나 개선시키는 것을 포함한다.
- [0049] 본 명세서에서 사용되는 피험자에서 질병 진행 또는 질병 합병증의 "억제"는 피험자에서 질병 진행 및/또는 질병 합병증을 방지하거나 감소시키는 것을 의미한다.
- [0050] 본 명세서에서 사용되는 류마티스 관절염과 관련된 "증상"은 관절염과 관련된 임의의 임상적 또는 검사 징후를 포함하며, 피험자가 느끼거나 관찰할 수 있는 것으로 제한되지 않는다. 염증은 류마티스 관절염의 증상이다.
- [0051] 본 명세서에서 사용되는 "이상반응(adverse event)" 또는 "AE"는 의약 제품이 투여된 임상시험 피험자에서 치료와 인과관계를 가지지 않는 어떤 뜻밖의 의학적 발생을 의미한다. 따라서 이상반응은 시험용 의학적 제품과 관련되는 것으로 생각되든 아니든, 일시적으로 시험용 의학적 제품의 사용과 관련된 비정상 검사소견(laboratory finding), 징후 또는 질병을 포함하는 임의의 바람직하지 않고 의도되지 않은 징후일 수 있다.
- [0052] 본 명세서에서 사용되는 "약제학적으로 허용가능한 담체"는 합리적인 이익/위험 비에 상응하는 과도한 부작용(예컨대 독성, 자극, 및 알레르기 반응) 없이 인간 및/또는 동물에 의한 사용에 적합한 담체 또는 부형제를 말한다. 이는 피험자에게 즉시의 화합물을 전달하기 위한 약제학적으로 허용가능한 용매, 혼탁제 또는 비히클일 수 있다.
- [0053] 용량을 언급할 때, 명칭 "BID"는 용량이 1일 2회 투여되는 것을 표시한다. 명칭 "QD"는 용량이 1일 1회로 투여되는 것을 표시한다.
- [0054] 류마티스 관절염에 대한 라퀴니모드의 사용은, 예를 들어 미국특허 제6,077,851호에서 이전에 시사되었다. 그러나, 본 발명자들은 놀랍게도 라퀴니모드와 메토트렉세이트(MTX)의 병용이 각 약제 단독과 비교하여 류마티스 관절염의 치료에 상당히 더 효과적이라는 것을 발견하였다.
- [0055] 본 출원에서 사용되는 라퀴니모드의 약제학적으로 허용가능한 염은 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 망간, 구리, 아연, 알루미늄 및 철을 포함한다. 라퀴니모드의 염 조제물 및 동일물을 제조하기 위한 방법은, 예를 들어 본 출원에 참조로 포함된 미국 특허 공개 제2005/0192315호 및 국제특허출원 WO 2005/074899에서 설명된다.
- [0056] 투약 단위는 단일 화합물 또는 그의 화합물의 혼합물을 포함할 수 있다. 투약 단위는 경구 제형, 예컨대 정제, 캡슐, 알약, 분말 및 과립으로 제조될 수 있다.
- [0057] 라퀴니모드는 의도된 투여 형태에 대해 적합하게 선택되고 통상적인 약제학적 실행과 일치하는 적합한 약제학적 희석제, 증량제, 부형제 또는 담체(본 명세서에서 약제학적으로 허용가능한 담체로 총괄적으로 언급됨)와 혼합하여 투여될 수 있다. 단위는 바람직하게는 경구 투여에 적합한 형태이다. 라퀴니모드는 단독으로 투여될 수 있지만 일반적으로 약제학적으로 허용가능한 담체와 혼합되며, 정제 또는 캡슐, 리포좀의 형태로, 또는 응집된 분말로 공동투여된다. 적합한 고체 담체의 예는, 락토스, 수크로스, 젤라틴 및 한천을 포함한다. 캡슐 또는 정제는 용이하게 조제될 수 있고, 삼키거나 씹기 용이하게 만들어질 수 있고; 다른 고체 형태는 과립 및 혼합 산제(bulk powder)를 포함한다. 정제는 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제, 착색제, 향미제, 유동성 유발제, 및 용융제를 함유할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐의 투약 단위 형태로 경구 투여를 위해, 활성 약물 성분은 경구, 비독성, 약제학적으로 허용가능한 비활성 담체, 예컨대 락토스, 젤라틴, 한천, 전분, 수크로스, 글루코스, 메틸셀룰로스, 다이칼슘 포스페이트, 칼슘 설페이트, 만니톨, 소르비톨, 미정질 셀룰로스 등과 조합될 수 있다. 적합한 결합제는 전분, 젤라틴, 천연 당, 예컨대 글루코스 또는 베타 락토스, 옥수수 전분, 천연 및 합성 검, 예컨대 아카시아, 트래거캔스 또는 알긴산 나트륨, 포비돈, 카복시메틸셀룰로스, 폴리에틸렌 글라이콜, 왁스 등을 포함한다. 이 제형에 사용된 윤활제는 올레산나트륨, 스테아르산나트륨, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 스테아르산, 스테아릴푸마르산나트륨, 탈크 등을 포함한다. 붕해제는, 제한 없이, 전분, 메틸 셀룰로스, 한천, 벤토나이트, 쟁탄검, 크로스카멜로스 나트륨, 전분 글라이콜산나트륨 등을 포함한다.
- [0058] 본 발명의 경구 제형을 조제하기 위해 사용될 수 있는 기술, 약제학적으로 허용가능한 담체 및 부형제의 특정 예는, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제2005/0192315호, PCT 국제특허출원 WO 2005/074899, WO 2007/047863, 및 WO 2007/146248에서 설명된다.
- [0059] 본 발명에서 유용한 제형을 제조하기 위한 일반적 기술 및 조성물은 다음의 참고문헌에서 설명된다: 7 Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10(Banker & Rhodes, Editors, 1979); Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets(Lieberman et al., 1981); Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2nd Edition(1976); Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed.(Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985); Advances in

Pharmaceutical Sciences(David Ganderton, Trevor Jones, Eds., 1992); Advances in Pharmaceutical Sciences Vol 7.(David Ganderton, Trevor Jones, James McGinity, Eds., 1995); Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms(Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Series 36(James McGinity, Ed., 1989); Pharmaceutical Particulate Carriers: Therapeutic Applications: Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Vol 61(Alain Rolland, Ed., 1993); Drug Delivery to the Gastrointestinal Tract(Ellis Horwood Books in the Biological Sciences. Series in Pharmaceutical Technology; J. G. Hardy, S. S. Davis, Clive G. Wilson, Eds.); Modern Pharmaceutics Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Vol. 40(Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes, Eds.). 이 참고문헌은 본 출원에 그의 전문이 참조로 포함된다.

[0060] 본 발명은 다음의 실험의 설명에 대한 언급에 의해 더 잘 이해될 것이지만, 당업자는 설명된 특정 실험이 단지 이후의 특허청구범위에서 더 완전하게 설명되는 본 발명의 예시라는 것을 용이하게 인식할 것이다.

#### 실험적 설명

[0062] 실시예 1: 제35일 DBA/101ahsd 준화립된 II형 콜라겐 관절염(MTTC/TV-9)에서 경구로(PO) 매일(QD) 투여된 항염 중 약제 효과의 평가

[0063] 도입

[0064] 마우스(DBA/11acJ, 1J 또는 B10R111)는 엔도톡신 또는 재조합 IL-1(Bendele, 2001)으로 동시에 부스팅(boosting)하고, 부스팅하지 않은 제0일, 제15일, 제16일 또는 제21일을 포함하는 다양한 방법을 사용하여 소 II형 콜라겐(Trentham, 1977)에 대해 면역화하였을 때 용이하게 다발성 관절염이 발생한다. 발생한 질병은 보통 대칭적이지 않으며 발/관절의 임의의 조합이 발병할 수 있다. 작은 마우스 발목의 캘리퍼 측정은 시험감염되기 때문에, 주관적인 임상적 스코어링 시스템은 종종 조직병리학적 스코어링 방법과 함께 사용된다. 처리는 예방적(일반적으로 제16일 내지 제21일에 출발) 또는 치료적(병변의 관찰 후)일 수 있으며, 사용한 면역 프로토콜 및 원하는 파괴의 정도에 의존하여, 10일 내지 몇 주로 연장될 수 있다. 영양을 받은 관절 내 병변은 래트 콜라겐 관절염 생물학적 약제, 예컨대 인터류킨-1 수용체 길항제(IL-1ra) 및 가용성 TNF 수용체 내에서 발생하는 것과 유사하다(Wooley, 1993; Bakker, 1997; Joosten, 1994; Joosten, 1996; Geiger, 1993). 질병 발생 및 증증도의 증대는 II형 콜라겐으로 면역화된 마우스 및 동시에 주어진 사이토카인, 예컨대 IL-1에서 증명되었다(Hom, 1991; Hom, 1988).

[0065] 이 연구는 단독으로 또는 마우스에서 준화립된 II형 콜라겐 관절염과 관련된 염증, 연골 파괴 및 뼈 흡수를 억제하는 잠재적 항 염증제로서 메토트렉세이트(MTX)와 병용하여 투여된(po, qd) 잠재적 항염증제(라퀴니모드 0.2, 1, 또는 5 mg/kg)의 효능을 결정하도록 설계한다. 마우스 II형 콜라겐 관절염은 인간에서 류마티스 관절염에 대한 당업계에 인식된 동물 모델이다(Bendele, 2001).

[0066] 여기서, 준화립된 II형 콜라겐 관절염에 의한 수컷 DBA/101ahsd 마우스를 비히클, 라퀴니모드(0.2, 1, 또는 5 mg/kg), 메토트렉세이트(0.5 mg/kg, MTX) 또는 MTX(0.5 mg/kg)와 병용된 라퀴니모드(0.2 또는 1 mg/kg)로 연구의 제18일 내지 제33일에 매일(QD) 경구로(PO) 투여하였다. 마우스를 제34일에 죽였다. 효능 평가는 동물의 체중, 매일의 임상적 관절염 스코어, 곡선면적(AUC)으로 표현되는 관절염 스코어, 및 마우스의 앞발, 뒷발, 및 무릎 상의 조직병리학(단지 그룹 1 내지 3, 5 및 8)을 기준으로 하였다. 조직병리학 결과는 4개의 발, 단지 무릎, 또는 6개의 관절(무릎을 포함)로 표현하였다. 혈청 항 II형 콜라겐 항체 수준의 평가를 또한 수행하였다(단지 그룹 1 내지 3, 6 및 8). 모든 동물은 연구 종결까지 생존하였다.

[0067] 동물

[0068] 도착시 5 내지 7주령이었고 연구 제18일에 대략 17 내지 22 그램의 무게가 나갔던 74마리 수컷 DBA/101ahsd(Harlan Inc.)을 얻었다. 마우스는 제1 면역조치 시기에 적어도 6주령이었다.

[0069] 재료: 비히클 내 약제 또는 약물, II형 콜라겐(Elastin 제품), 프로인트 완전 보강제(Freund's complete adjuvant)(추가의 마이코박테리움 투버큐로시스(*M. tuberculosis*), 4 mg/ml와 함께)(Difco).

[0070] 일반적 연구 설계

[0071] 1. 동물(10마리/관절염에 대한 그룹, 4마리/정상에 대한 그룹, 가둬놓은 5 마리/케이지)을 모든 동물이 적어도 7주령에 도달한 후 8일 동안 순응시켰다.

[0072] 2. 마우스를 아이소플루란으로 마취시켰고, 꼬리의 아래부분에서 소 II형 콜라겐(미조리주 오웬스빌에 소재한

Elastin 제품)을 함유하는 프로인트 완전 보강제 주사(Sigma)에서 150 $\mu\text{l}$ 의 소 II형 콜라겐을 제공하였다(제0일 및 제21일).

[0073] 3. 마우스를 연구 제18일에 처리군에 체중에 의해 무작위화하였다.

[0074] 4. MTX는 Bolder BioPATH, Inc에 의해 MWI로부터 구입한 1 mg/ml 용액으로서 공급되며, 10 ml/kg에서 용량을 위해 1% CMC 내 0.05 mg/ml 용액으로 제조하였다.

[0075] 5. 10 ml/kg(0.3ml/30g)로 마우스에 전달하기 위해 모든 용량 용액을 제조하였다.

[0076] 6. 처리를 연구 제18일에 개시하였고, 표 1에 따라서 매일 1일 1회(po, qd) 지속하였다.

표 1

처리 용량 스케줄							
그룹	N	화합물	경로	섭생	용량 수준(mg/kg)	용량 농도(ml/kg)	
1	4	나이브	NA	NA	0	0	
2	10	비히클 질병 대조군	NA	NA	0	0	
3	10	MTX(0.5 mg/kg)	po	QD	0.5	0.05	
4	10	라퀴니모드	po	QD	0.2	0.02	
5	10	라퀴니모드	po	QD	1	0.1	
6	10	라퀴니모드	po	QD	5	0.5	
7	10	라퀴니모드 및 MTX(0.5 mg/kg)	po	QD	0.2	0.02	
8	10	라퀴니모드 및 MTX(0.5 mg/kg)	po	QD	1	0.1	

\* 모든 시험 그룹에 대해: n=10, BW=30g, 용량 vol=10 ml/kg, 17일에 대한 용량

[0078] 7. 처리 기간 동안, 임상적 스코어가 표 2에 따라서 각각의 발(오른쪽 앞발, 왼쪽 앞발, 오른쪽 뒷발, 왼쪽 뒷발)에 대해 주어진다.

표 2

앞발 및 뒷발에 대한 임상적 스코어 기준	
스코어	설명
0	정상
1	발병한 1개의 뒷발 또는 앞발 관절 또는 최소의 광범위 홍반(diffuse erythema) 및 부종
2	발병한 2개의 뒷발 또는 앞발 관절 또는 경증의 광범위 홍반 및 부종
3	발병한 3개의 뒷발 또는 앞발 관절 또는 보통의 광범위 홍반 및 부종
4	현저한 광범위 홍반 및 부종, 또는 발병한 4개의 발가락 관절
5	발가락을 굽힐 수 없는 전체 발의 중증의 광범위 홍반 및 중증의 팽창

[0080] 8. 제21일 내지 제35일에, 관절염의 개시가 일어났다. 제18일, 제20일, 제22일, 제24일, 제26일, 제28일, 제30일, 제32일, 및 제34일(최종일)에 조직 수집 전에 마우스를 체중을 겠다.

[0081] 9. 해부시, 모든 그룹으로부터 동물을 혈청에 대해 심장천자를 통해 채혈하였고, 추파열법을 통해 죽였다. 앞발, 뒷발 및 무릎을 제거하고 10% NBF에 넣었다. 전혈을 실온에서 대략 2시간 동안 응고시킨 후 13,000 rpm에서 8시간 동안 교반하였다.

[0082] 10. 관절의 처리: 고정액 중에서 1 내지 2일, 석회질 제거 물질 중에서 4 내지 5일 후, 관절을 처리하고, 포매 하였으며(embedded), 절단하고 틀루이딘 블루 및 H&E로 염색하였다(동물 당 2개의 슬라이드). 앞발 및 뒷발 및 무릎만 처음에 처리하였다(6개 관절/마우스).

[0083] 11. 형태적 병리학 방법: 조직병리학을 그룹 1 내지 3, 5 및 8 상에서만 수행하였다. 고정액 중에서 1 내지 2일, 석회질 제거를 위해 5% 포름산 중에서 4 내지 5일 후, 조직을 트리밍하였고, 파라핀 포매를 위해 처리하고, 8  $\mu\text{m}$ 로 절편화하고, 틀루이딘 블루(T 블루)로 염색하였다. 뒷발, 앞발, 및 무릎을 포매하였고, 전액 면 내 절편화하였다. 조직병리학 평가를 위해 각 동물로부터 6개의 관절을 처리하였다.

[0084] 12. 조직 처리 및 평가:

[0085] a. 석회질 제거물질 중에 관절을 넣는다

[0086] b. 관절을 자르고, 세척하며, 조직을 처리한다,

[0087] c. 관절 포매,

[0088] d. 조직 절편화, 조직 염색,

[0089] e. 조직병리학적 평가, 및

[0090] f. 데이터 처리, QC로 그래프를 준비하고 보고한다.

#### II형 콜라겐 관절염이 있는 마우스 관절에 대한 조직병리학적 스코어링 방법

[0092] II형 콜라겐 관절염의 병변이 있는 마우스로부터 발 또는 발목을 스코어링 할 때, 변화의 중증도뿐만 아니라 발병한 개개 관절의 수를 생각하여야 한다. 다수의 중수골/중족골/손가락 또는 족근골/경부골 관절의 가능성을 벗어나서 발 또는 발목의 단지 1 내지 3개 관절이 영향을 받을 때, 변화의 중증도에 의존하여 이하의 변수(표 3 내지 6)에 대해 1, 2 또는 3의 최대 스코어의 임의의 평가가 주어진다. 3개 초과의 관절이 수반된다면, 가장 심각하게 발병한/대다수의 관절에 이하의 기준(표 3 내지 6)을 적용하였다.

**표 3**

[0093]

염증	
스코어	설명
0	정상
1	활막 및 발병한 관절의 주위 조직 내 염증 세포의 최소 침윤
2	염증 세포의 경증의 침윤. 발에 대해 언급한다면, 발병한 관절(1 내지 3개 영향반응)로 일반적으로 제한됨
3	보통의 부종이 있는 보통의 침윤. 발에 대해 언급한다면, 발병한 관절, 일반적으로 3 내지 4개의 관절 + 손목 또는 발목으로 제한됨
4	현저한 부종이 있는 대부분의 영역에 발병하는 현저한 침윤, 1 또는 2개의 발병하지 않은 관절이 존재할 수 있음
5	모든 관절 및 주변 조직에 발병하는 중증의 부종이 있는 중증의 분산된 침윤

**표 4**

[0094]

관누스	
스코어	설명
0	정상
1	연골 및 연골하 뼈, 주변 구역 내 관누스의 최소 침윤
2	발병한 관절 내 경조직의 주변 구역 파괴와 함께 경증의 침윤
3	발병한 관절 내 보통의 경조직 파괴와 함께 보통의 침윤
4	대부분의 관절에 발병하는 관절 구조의 현저한 파괴와 함께 현저한 침윤
5	모든 관절에 발병하는 전체 또는 거의 전체의 관절 구조의 파괴와 관련된 중증의 침윤

**표 5**

[0095]

연골 손상	
스코어	설명
0	정상
1	최소: 발병한 관절 내 분명한 연골세포 손실 또는 콜라겐 파괴와 함께 틀루이딘 블루 염색의 일반적으로 최소 내지 경증의 손실
2	경증: 일부 발병한 관절 내 초점 지역의 연골세포 손실 및/또는 콜라겐 파괴와 함께 틀루이딘 블루 염색의 일반적으로 경증의 손실
3	발병한 관절 내 다초점 연골세포 손실 및/또는 콜라겐 파괴와 함께 틀루이딘 블루 염색의 일반적으로 보통의 손실, 일부 기질은 중증의 기질 손실 영역과 함께 어떤 발병한 표면 상에 남아있다

4	현저: 전체 내지 거의 전체의 연골 손실이 무릎 한쪽의 표면에 있다면, 대부분의 관절에서 다초점의 현저한(깊은 구역에 대한 깊이) 연골세포 손실 및/또는 콜라겐 파괴와 함께 톨루이딘 블루 염색의 현저한 손실
5	중증: 전체 내지 거의 전체의 연골 손실이 무릎-2 또는 그 이상의 표면에 있다면, 모든 관절에서 다초점의 중증의(물결 표시에 대한 깊이) 연골세포 손실 및/또는 콜라겐 파괴와 함께 톨루이딘 블루 염색의 중증의 분산 손실

표 6

뼈 흡수	
스코어	설명
0	정상
1	최소: 작은 흡수 영역, 저배율 상에서 용이하게 분명하지 않음, 발병한 관절 내 예외적인 파골세포, 주변 구역으로 제한됨
2	경증: 더 많은 다수의 흡수 영역, 저배율 상에서 용이하게 분명하지 않음, 발병한 관절 내 더 많은 파골세포, 주변 구역으로 제한됨
3	보통: 피질 내 완전한 두께의 결합 없이 수질 섬유주 및 피증의 명백한 재흡수, 수질 섬유주의 손실, 저배율 상에서 명확한 병변, 발병한 관절 내 더 많은 파골세포
4	현저: 피질골 내 완전한 두께 결합, 종종 남은 피질 표면 프로파일의 뒤틀림이 있음, 수질골의 현저한 손실, 대부분의 관절에 영향을 미침
5	중증: 피질골 내 완전한 두께의 결합 및 모든 관절의 관절 구조의 파괴

[0096] 각 동물에 대해, 염증, 판누스, 연골 손상 및 뼈 손상 스코어를 제출한 각각의 6개의 관절에 대해 결정하였다. 총(모두 6개 관절) 동물 스코어와 6개 관절 평균 동물 스코어뿐만 아니라 각각의 개개 변수에 대한 합 및 평균을 결정하였다. 또한 데이터는 발(4개 관절) 또는 무릎(2개 관절)에 대한 평균으로 표현하였다. 다음에 다양한 그룹에 대한 변수를 질병 대조군 동물과 비교한다.

#### [0098] 통계적 분석

[0099] 발 스코어에 대한 임상적 데이터(동물에 대한 평균)를 연구일 제18일 내지 제34일에 대해 용량 곡선하 면적(AUC)을 결정함으로써 분석하였다. AUC의 계산을 위해, 각 마우스에 대한 매일의 평균을 마이크로소프트 엑셀에 입력하였고, 질병의 개시 후 최종일 까지 처리일 사이의 면적을 계산하였다. 각 그룹에 대한 평균을 결정하였고, 관절염 대조군으로부터의 억제%를 처리 동물과 정상 동물에 대한 값을 비교함으로써 계산하였다.  $p \leq 0.05$ 로 설정한 유의도로 스튜던트 t-테스트를 사용하여 임상적 및 조직병리학적 데이터의 통계적 분석을 수행하였다.

[0100] 임상적 변수 및 AUC의 억제%를 다음의 식을 사용하여 계산하였다:

$$\% \text{ 억제} = B/A \times 100,$$

[0102] 여기서  $A =$  질병 대조군 평균 - 정상군 평균

$$B = \text{처리군 평균} - \text{정상군 평균}$$

#### [0104] 결과

[0105] 이 연구는 인간 류마티스 관절염에 대한 동물 모델에서 po, qd로 투여된 항염증제의 효과를 평가한다. 결과는 류마티스 관절염 증상에서 라퀴니모드와 메토트렉세이트 병용 효과가 각 약제 단독의 추가적인 효과보다 유의하게 더 많다는 것을 나타낸다.

[0106] 관절염에 기인하는 체중 손실은 비히를 처리한 질병 대조군과 비교하여 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX (62% 억제)로 처리군에 의해 유의하게 억제되었다. 이 그룹에 대한 체중 손실은 또한 MTX 처리된 마우스와 비교하여 유의하게 (69%) 억제되었다. 모든 다른 처리군에 대한 체중 손실은 비히를 대조군과 유의하게 다르지 않았다.

[0107] 비히를 처리된 질병 대조군 마우스는 연구 제27일에 의해 100% 발병률을 가졌다. 0.2 mg/kg 라퀴니모드로 처리한 마우스는 연구 제28일에 100% 발병률을 가졌다. MTX, 1 mg/kg 라퀴니모드, 또는 0.2 mg/kg 라퀴니모드 + MTX로 처리한 동물은 연구 종결시 90%의 감소된 발병률을 가졌다. 감소된 발병률은 또한 5 mg/kg 라퀴니모드(70% 발병) 또는 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX (60%)로 처리한 마우스에서 보였다.

[0108] 매일의 임상적 관절염 스코어는 비히를 대조군과 비교하여 MTX(\*중요한 제27일 내지 제34일), 0.2 mg/kg 라퀴니

모드(\*제28일 내지 제34일), 1 mg/kg 라퀴니모드(\*제25일 내지 제34일), 5 mg/kg 라퀴니모드(\*제24일 내지 제34일), 0.2 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(\*제24일 내지 제34일) 또는 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(\*제24일 내지 제34일)로 처리함 마우스에서 유의하게 감소되었다. 매일의 임상적 스코어는 또한 MTX만으로 처리한 마우스와 비교하여 0.2 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(\*제29일 내지 제34일) 또는 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(\*제26일 내지 제34일)로 처리에 의해 유의하게 감소되었다. 비히를 대조군에서 질병 발생 전, 매일의 임상적 관절염 스코어는 0.2 mg/kg 라퀴니모드(\*제23일), 1 mg/kg 라퀴니모드(\*제22일 내지 제24일), 또는 5 mg/kg 라퀴니모드(\*제22일 내지 제23일)로 처리한 마우스에서 유의하게 상승되었다. (도 3)

[0109] 곡선화 면적(AUC)으로 표현한 임상적 관절염 스코어는 비히를 대조군과 비교할 때 MTX(50% 감소), 0.2 mg/kg 라퀴니모드(32%), 1 mg/kg 라퀴니모드(52%), 5 mg/kg 라퀴니모드(69%), 0.2 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(82%), 또는 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(95%)로 처리한 마우스에 대해 유의하게 감소되었다. 임상적 관절염 스코어 AUC는 또한 MTX 처리 마우스와 비교하여 0.2 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(65%) 또는 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(90%)로 처리에 의해 유의하게 감소되었다.

[0110] 항-TTC 수준에 대한 혈청 분석을 단지 제1일 내지 제3일, 제6일 및 제8일의 그룹의 마우스에서 수행하였다. 혈청 분석은 비히를 대조군 마우스가 27,062.50 단위/ml의 항-TTC 수준을 가졌다. 혈청 항-TTC 수준은 비히를 대조군과 비교하여 5 mg/kg 라퀴니모드, 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX, 또는 MTX로 처리에 의해 유의하게 영향받지 않았다.

[0111] 질병 대조군 동물은 최소 내지 중증의 범위에 있는 스코어로 대부분의 관절에서 II형 콜라겐 유발 관절염에서 보이는 것과 일치하는 조직병리학 변화를 가졌다. 미시적 변경은 호중구 및 단핵 염증 세포(염증)이 있는 활액 및 관절주위 조직, 주변대(marginal zone) 판누스 및 뼈 흡수 및 연골 손상(프로테오글라이칸 손실, 연골세포 사멸 및 콜라겐 매트릭스 파괴)의 침입을 포함하였다.

[0112] 모든 발 조직병리학적 변수는 비히를 대조군과 비교하여 1 mg/kg 라퀴니모드(합계한 스코어의 61% 감소), 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(96%), 또는 MTX(46%)로 처리한 마우스에 대해 정상으로 유의하게 감소되었다. 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX로 처리는 또한 MTX 처리 마우스와 비교하여 모든 발 조직병리학 변수를 유의하게(93%) 감소시켰다.

[0113] 모든 무릎 조직병리학 변수는 비히를 대조군과 비교하여 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(스코어 합계의 97% 감소)로 처리한 마우스에 대해 정상으로 유의하게 감소되었다. 이 그룹의 처리는 또한 MTX 처리한 마우스와 비교하여 모든 무릎 조직병리학 변수를 유의하게(95%) 감소시켰다. 1 mg/kg 라퀴니모드로 처리는 비히를 대조군과 비교하여 무릎 염증(51% 감소), 판누스(59%), 연골 손상(62%), 및 합계한 무릎 스코어(57%)를 유의하게 감소시켰다.

[0114] 모든 6개 관절 평균 조직병리학 변수는 비히를 대조군과 비교하여 1 mg/kg 라퀴니모드(60% 합계한 스코어의 감소), 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX(96%), 또는 MTX(43%)로 처리한 마우스에 대해 정상으로 유의하게 감소되었다. 1 mg/kg 라퀴니모드 + MTX로 처리는 또한 MTX 처리 마우스와 비교하여 모든 6개 관절 조직병리학 변수를 유의하게(93%) 감소시켰다.(도 1 및 도 2)

[0115] 도 1 및 도 2에서와 같이, 다양한 증상의 중증도를 유의하게 감소시킨 메토트렉세이트와 병용한 라퀴니모드의 투여는 대조군, 메토트렉세이트만의 처리군, 및 라퀴니모드만의 처리군과 비교하여 DBA/101aHsd 마우스(4개 발 및 2개 무릎)의 6개 관절 상에서 염증, 판누스, 연골 손상 및 뼈 흡수를 포함하는 류마티스 관절염과 관련되었다.

[0116] 도 1은 메토트렉세이트와 병용된 라퀴니모드의 투여가 시험 피험자의 6개 관절에서 판누스 및 뼈 손상을 실질적으로 제거하며, 그의 평균 스코어를 거의 0으로 감소시킨다는 것을 나타낸다. 도 2는 메토트렉세이트와 병용된 라퀴니모드의 투여가 시험 피험자에서 류마티스 관절염과 관련된 전반적인 증상을 실질적으로 제거하며, 그의 누적 스코어를 96%로 감소시킨다는 것을 나타낸다.

[0117] 따라서, 이 결과는 메토트렉세이트와 병용된 라퀴니모드의 투여가 각 약제를 단독으로 투여할 때보다 활성 류마티스 관절염에 걸린 피험자를 치료하는 것에 실질적으로 더 효능이 있다는 것을 나타낸다. 본 발명자들은 놀랍게도 라퀴니모드 및 메토트렉세이트가 활성 류마티스 관절염의 치료에서 상승적으로 작용한다는 것을 발견하였다.

#### 참고문헌

1. "Rheumatoid Arthritis" (1999) The Merck Manual, 7<sup>th</sup> Edition, pp 416-423.

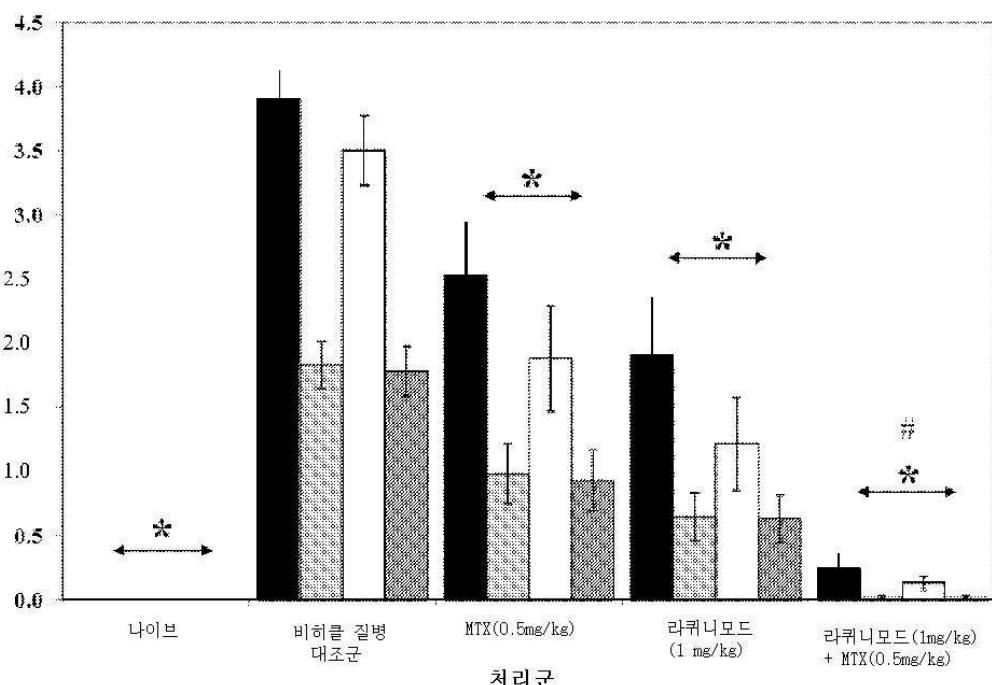
- [0120] 2. 0130282 99506202. A double blind, randomized, repeat-dose, dose escalation study of ABR 215062 versus placebo in healthy volunteers and patients with multiple sclerosis. Active Biotech Research AB, Sweden. Final Clinical Trial Report, January 2002.
- [0121] 3. 03506207. An open safety study on laquinimod (ABR-215062) in patients with multiple sclerosis. Active Biotech Research AB, Sweden. Final Clinical Trial Report, April 2007.
- [0122] 4. 0430067 275-1061-01. Determination of the effects of ABR-212616, ABR-215050, ABR-215062 and ABR-215757 on the activities of CYP1A2 and CYP3A4 in cryopreserved human hepatocytes. In Vitro Technologies, USA. Final Report, February 2004.
- [0123] 5. 0430518 275-1081-02. Determination of the effects of ABR-215062 on CYP1A2 and CYP3A4 in cryopreserved human hepatocytes. In Vitro Technologies, USA. Final Report, August 2004.
- [0124] 6. 9830089. PNU-215045, PNU-215062: Effects on cytochrome P450 enzymes in female Sprague Dawley rats. Lund Research Center AB, Active Biotech Group, Sweden. Final Report, November 1998.
- [0125] 7. 9830133. PNU-215062: Effects on cytochrome P450 enzymes in female Sprague Dawley rats. Lund Research Center AB, Active Biotech Group, Sweden. Final Report, November 1998.
- [0126] 8. A two-period, open-label, one-sequence crossover study in healthy subjects to assess the potential interaction of fluconazole on laquinimod pharmacokinetics. PRACS Institute Cetero Research, ND, USA. Final Report, June 2009.
- [0127] 9. Arnett F, Edworthy S, Bloch D, McShane D, Fries J, Cooper N, Healey L, Kaplan S, Liang M, Luthra H (1988) "The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis". *Arthritis Rheum.* 31(3): 315-24.
- [0128] 10. Bakker, AC, Joosten LAB, Arntz OJ, Helsen MA, Bendele AM, van de Loo AJ, van den Berg WB. Gene therapy of murine collagen-induced arthritis: local expression of the human interleukin-1 receptor antagonist protein prevents onset. *Arthritis Rheum.* 1997; 40:893-900, 1997.
- [0129] 11. Bendele, A.M. (2001) "Animal Models of Rheumatoid Arthritis" *J Musculoskel Neuron Interact.* 1(4):377-385.
- [0130] 12. Geiger T, Twobin H, Consentino-vargas A, Zingel O, Arnold J, Rordorf C, Glatt M, Vosbeck K. Neutralization of interleukin-1B activity in vivo with a monoclonal antibody alleviates collagen-induced arthritis in DBA/1 mice and prevents the associated acute phase response. *Clin Exp Rheumatol.* 1993; 11:515-522.
- [0131] 13. Hom J, Bendele AM, Carlsson D. In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol.* 9188; 141:834-841.
- [0132] 14. Hom J, Gliszcznski VL, Cole HW, Bendele AM. Interleukin-1 mediated acceleration of type II collagen-induced arthritis: Effects of anti-inflammatory or anti-arthritis drugs. *Agents Actions.* 1991; 33:300-309.
- [0133] 15. Joosten LAB, Helsen MMA, van de Loo FAJ and van den Berg WB. Amelioration of established type II collagen-induced arthritis (CIA) with anti-IL-1. *Agents Actions.* 1994; 41:C174-C176.
- [0134] 16. Joosten LAB, Helsen MMA, van de Loo FAJ and van den Berg WB. Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. *Arthritis Rheum.* 1996; 39:797-809.
- [0135] 17. PCT International Application Publication No. WO 2007/047863, published April 26, 2007, international filing date October 18, 2006.
- [0136] 18. PCT International Application Publication No. WO 2007/146248, published December 21, 2007, international filing date June 12, 2007.
- [0137] 19. Polman, C. et al., (2005) "Treatment with laquinimod reduces development of active MRI

lesions in relapsing MS" , Neurology. 64:987-991.

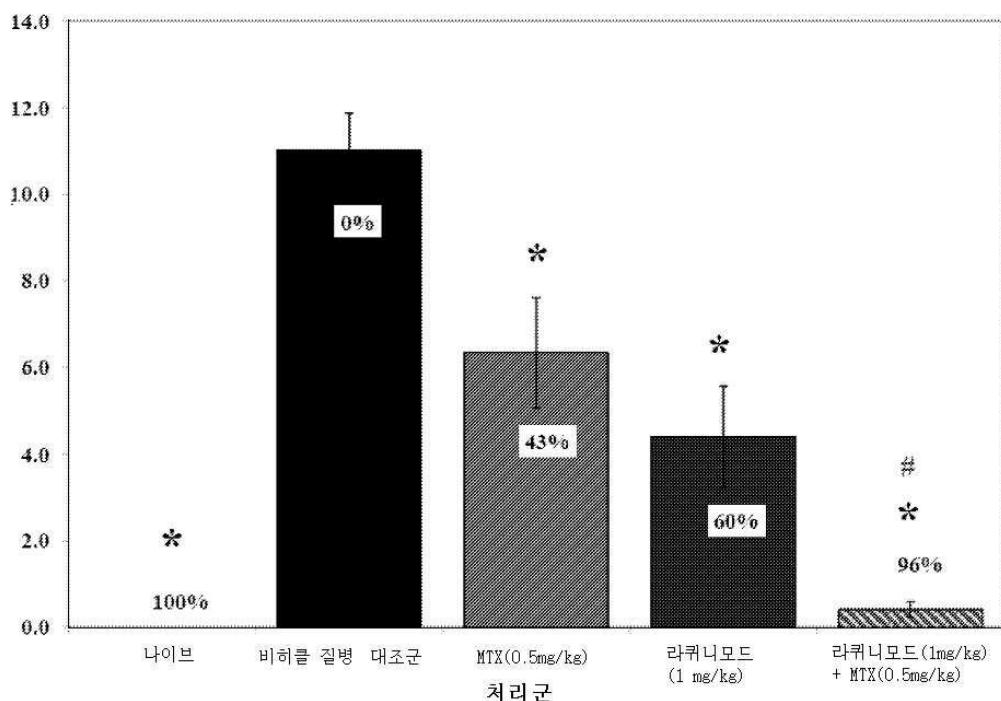
- [0138] 20. Sandberg-Wollheim M, et al. (2005) "48-week open safety study with high-dose oral laquinimod in patients" , Mult Scler. 11:S154 (Abstract).
- [0139] 21. TQT-LAQ-122. A Double-Blind, Randomized, Parallel Group, Thorough QT/QTc Trial in Healthy Men and Women to Assess the Effect of Laquinimod on Cardiac Repolarization Using a Clinical and a Supratherapeutic Dose Compared to Placebo, with Moxifloxacin as a Positive Control. PRACS Institute Cetero Research, ND, USA. Final Report, June 2009.
- [0140] 22. Trentham DE, Townes AS, Kang AH. Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis. J Exp Med. 1977; 146(3):857-868.
- [0141] 23. U.S. Patent No. 6,077,851, issued June 20, 2000 to Bjork, et al.
- [0142] 24. Wooley PH, Whalen JD, Chapman DL, Berger AE, Richard KA, Aspar DG and Staite ND. The effect of an interleukin-1 receptor antagonist protein on type II collagen-induced arthritis and antigen-induced arthritis in mice. Arthritis Rheum. 1993; 36:1305-1314.

## 도면

### 도면1



## 도면2



## 도면3

