



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0706431-4 A2**

(22) Data de Depósito: 24/01/2007
(43) Data da Publicação: 29/03/2011
(RPI 2099)



★ B R P I 0 7 0 6 4 3 1 A 2 ★

(51) *Int.Cl.:*
A61K 38/48
A61K 8/64
A61P 21/00

(54) Título: **COMPOSIÇÃO E UTILIZAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**

(30) Prioridade Unionista: 27/01/2006 FR 0600732

(73) Titular(es): Sociéte de Conseils de Recherches Et
D Applications Scientifiques (S.C.R.A.S.)

(72) Inventor(es): Laure Berruet

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT FR2007000134 de 24/01/2007

(87) Publicação Internacional: WO WO2007/085728de
02/08/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO E UTILIZAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO A presente invenção tem por objeto uma composição quecompreende pelo menos: uma neurotoxina botulínica de tipo Ai, e uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja sequência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a sequência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

“COMPOSIÇÃO E UTILIZAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO”

A presente invenção tem por objeto uma composição que compreende várias toxinas botulínicas de tipo A.

A toxina botulínica, em particular a toxina botulínica de tipo A1 (Dysport® comercializado por Ipsen ou Botox® comercializado por Allergan), é utilizada desde os anos 80 no homem para o tratamento de doenças/desordens diversas e variadas. Dentre as doenças/desordens que podem ser tratadas pela toxina botulínica, pode-se citar entre outras desordens musculares (por exemplo o blefaroespasma, a espasticidade do adulto ou da criança ou ainda o torcicolo), a enxaqueca, a dor de origem muscular, a dor neuropática, o diabetes, a hiper-hidrose (ou transpiração excessiva), a hiper-salivação ou mesmo as rugas.

As aplicações das toxinas botulínicas conhecidas a até o momento têm sua administração clássica, intramuscular tal como foi descrita nos tratamentos mencionados. A injeção nos músculos provoca sua paralisia transitória, ou seja bloqueia as contrações musculares em certo período de tempo.

Ora as composições de toxinas botulínicas utilizadas até o momento apresentam uma duração de ação no tempo que é limitada.

A fim de responder às exigências dos industriais se tornou necessário encontrar um meio para aumentar a duração de ação da toxina botulínica sem alterar sua atividade biológica.

Também o problema que a invenção se propõe a resolver é fornecer uma nova composição de toxinas botulínicas que têm uma duração de ação prolongada.

De maneira inesperada, os inventores destacaram que é possível combinar várias toxinas botulínicas.

Neste objetivo, a presente invenção propõe uma composição que compreenda pelo menos:

- uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e
- uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

5 A invenção oferece vantagens determinantes, em particular a presente composição apresenta uma duração da paralisia muscular que é melhorada quando a referida composição é injetada em um músculo liso ou esquelético. A duração da paralisia muscular pode atingir até 10 meses em alguns casos, e geralmente varia mais entre 2 a 8 meses.

10 A invenção oferece como outra vantagem que as composições de acordo com a invenção podem ser utilizadas com doses muito mais baixas comparadas com as doses das toxinas botulínicas atualmente disponíveis no comércio. Em outros termos, para obter o mesmo relaxamento dos músculos, injeta-se uma quantidade inferior de toxina botulínica. Para as mesmas
15 indicações terapêuticas, uma redução compreendida entre 10 a 70%, de preferência entre 25 a 50%, doses de administração puderam ser observadas (comparação entre unidades de toxinas injetadas para obter o mesmo efeito biológico).

 Outra vantagem das composições de acordo com a invenção é
20 que provocam poucos efeitos secundários, e notadamente muito menos efeitos secundários do que as composições conhecidas até o momento de toxina botulínica. Em particular a possibilidade de utilizar doses baixas de composição de acordo com a invenção permite vantajosamente reduzir os efeitos secundários. Dentre os efeitos secundários que são evitados, pode-se
25 citar esses ligados à imunogenicidade da proteína propriamente dita, assim como a disfagia, a ptose ou a fraqueza muscular geral, esta lista não sendo exaurida.

 Além disso, as composições de acordo com a invenção apresentam como outra vantagem uma rapidez de ação melhorada quando a

referida composição é injetada em um músculo liso ou esquelético. O efeito biológico ou clínico pode aparecer 12 horas após a injeção, e mais geralmente em um prazo compreendido entre 14 a 24 horas após a injeção.

5 Vantajosamente, as composições de acordo com a invenção buscam um efeito miorelaxante muito homogêneo.

Por último, a invenção tem por vantagem poder ser empregada em todas as indústrias, notadamente a indústria farmacêutica, veterinária, cosmética, bem como os domínios da higiene diária ou da higiene corporal.

10 Outras vantagens e características da invenção aparecerão claramente à leitura da descrição e exemplos dados a título meramente ilustrativos e não limitativos que irão seguir.

A presente invenção tem por objeto uma composição que compreende pelo menos:

- uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e
- 15 - uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

20 Pela expressão neurotoxina botulínica, entende-se uma toxina botulínica que é seja uma proteína livre (i.e. livre de qualquer proteína complexante), seja um complexo protéico, o referido complexo protéico que pode compreender, por exemplo, a hemaglutinina (proteína HA) associada à toxina botulínica, ou seja um fragmento protéico.

25 Pela expressão toxina botulínica, entende-se uma molécula que possui a atividade biológica da toxina botulínica, que pode ser seja uma proteína, seja polipeptídeo, seja um peptídeo, seja uma proteína de fusão, seja uma proteína tronqueada, seja uma proteína quimérica, seja uma proteína mutada ou uma proteína recombinante.

Pela expressão atividade biológica da toxina, entende-se na acepção da presente invenção seja uma paralisia muscular seja uma inibição

da exocitose, em particular da exocitose da acetilcolina ou de um outro neuro-transmissor.

5 Por proteína, polipeptídeo ou peptídeo entende-se na acepção da presente invenção, um polímero de aminoácidos, naturais ou não, levógiro ou não, dextrógiro ou não.

10 Por proteína quimérica, entende-se na acepção da presente invenção uma proteína obtida após associação de diferentes tipos de moléculas, por exemplo, após associação de lipídeos, de glicolipídeos, de peptídeos, de polipeptídeos, de proteínas, de glicoproteínas, de carboidratos, de polissacarídeos, de ácidos nucleicos, de polietileno glicol, etc.

15 A neurotoxina botulínica, pura ou quase pura, pode ser obtida partir de um complexo protéico que compreende a toxina botulínica, por exemplo, de acordo com o método descrito em *Current topics in Microbiology and Immunology* (1995), 195, p. 151-154. Uma neurotoxina botulínica, pura ou quase pura, pode ser obtida, por exemplo, por purificação de um meio de fermentação ou ebulição de cultura que contém uma cepa de *Clostridium Botulinum*, e enriquecido, por exemplo, em carne ou alimento proteinado.

20 O primeiro constituinte essencial da composição é constituído por uma neurotoxina botulínica de tipo A1.

A neurotoxina botulínica de tipo A1 corresponde, com efeito, à toxina botulínica clássica que é chamada comumente toxina botulínica de tipo A, sem distinção do sub-tipo. A neurotoxina botulínica de tipo A1 é comercializada sob o nome de DYSPORT® ou BOTOX®.

25 De acordo com a invenção, a neurotoxina botulínica de tipo A1 pode corresponder seja a um complexo de toxina botulínica A1 e de hemaglutinina, seja toxina botulínica de tipo A1 livre de todas as proteínas complexantes.

O segundo constituinte essencial da composição é constituído

por uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1. Para uma leitura mais fácil na seqüência da exposição, esta neurotoxina é chamada neurotoxina botulínica de tipo Ax.

5 Pela expressão “uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos λ % de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1”, entende-se que estas seqüências de aminoácidos (cadeia pesada e cadeia leve) correspondem às seqüências da toxina botulínica livre de todas as proteínas
10 complexantes. Por exemplo, 10% de diferença, significa que 10 aminoácidos são diferentes dentre 100 aminoácidos. Entende-se que diferente pode significar que falta, no exemplo 10% de diferença pode se entender por 10 aminoácidos que faltam entre 100 aminoácidos.

 Mais particularmente a composição de acordo com a invenção
15 compreende pelo menos uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 8% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

 De preferência a composição de acordo com a invenção compreende pelo menos uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência
20 de aminoácidos apresenta pelo menos 10% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

 Ainda mais preferencialmente a composição de acordo com a invenção compreende pelo menos uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 12% de diferença com a
25 seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

 Dentre os neurotoxinas botulínicos de tipo Ax, pode-se citar a toxina botulínica de tipo A2.

 De preferência, a composição de acordo com a invenção compreende pelo menos:

- uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e
- uma neurotoxina botulínica de tipo A2.

A toxina botulínica de tipo A2 foi, primeiramente, isolada a partir de casos de crianças atingidas de botulismo para 1990 (Sakaguchi et al, *Int. J. Food Microbiol.* (1990), 11, 231-242). Esta toxina é imunológica e bioquimicamente diferente da toxina botulínica de tipo A1. A toxina botulínica de tipo A2 pode ser isolada a partir das seguintes cepas: Kyoto-F, Chiba-H, Y-8036, 7103-H, 7105-H, KZ1828, NCTC2012 ou NCTC9837 (Cordoba et al, *System. Appl. Microbiol.* (1995), 18, 13-22; Franciosa et al., abstract presented at 40th Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, November 2003).

De preferência a composição de acordo com a invenção compreende a toxina botulínica de tipo A2 isolada a partir da cepa *Clostridium botulinum* referenciada e acessível sob o número NCTC9837, junto da National Collection of Type Cultures - Central Public Health Laboratory - Londres - UK. A cepa NCTC9837 é, às vezes, chamada cepa Mauritius 1955.

Ainda mais preferencialmente, a composição de acordo com a invenção compreende pelo menos:

- uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e
- uma neurotoxina botulínica de tipo A2 isolada a partir da cepa *Clostridium botulinum* NCTC9837.

A toxina botulínica de tipo A2 difere da toxina A1 por entre outras, sua seqüência de aminoácidos, seu peso molecular, suas características imunológicas e genéticas (Kubota et al, *Biochem. Biofys. Res. Commun.* (1996), 224 (3), 843-848).

As diferenças bioquímicas entre a toxina botulínica de tipo A2 e aquela de tipo A1 são entre outras que a toxina botulínica de tipo A1 contém a proteína NTNH (proteína não tóxica e não-hemaglutinina) e pelo menos 3

hemaglutininas (HA17, HA34 e HA70), enquanto que a toxina botulínica de tipo A2 pode conter a proteína NTNH, sem hemaglutinina (Sakaguchi et al, *Int. J. Food Microbiol.* (1990), 11, 231 - 242).

5 A toxina botulínica de tipo A2 possui uma cadeia pesada de cerca de 101 kDa enquanto que a toxina botulínica de tipo A1 possui uma cadeia pesada de cerca de 93 kDa (Kozaki et al, *Microbiol. Immunol.* (1995), 39 (10), 767-74).

10 A sequência de aminoácidos das toxinas botulínicas de tipo A2 e A1 é significativamente diferente, mais particularmente no nível da cadeia pesada. Por exemplo, no caso da toxina botulínica de tipo A2 proveniente da cepa Kyoto-F, 109 aminoácidos dentre os 847 aminoácidos da cadeia pesada são diferentes entre as 2 toxinas (13% de diferença) (Cordoba et al, *System. Appl. Microbiol.* (1995), 18, 13-22).

15 De modo geral, as cadeias pesadas das toxinas botulínicas de tipos A1 isoladas diferem entre si por menos de 2% de diferença. A cadeia pesada da toxina botulínica participa nas atividades biológicas principais da molécula, incluindo a ligação ao receptor nas células alvos e o transporte intracelular (Zhang et al, *Gene* (2003), 315, 21-32).

20 Existem diferenças imunológicas entre a toxina botulínica de tipo A2 e a de tipo A1. Com efeito anticorpos dirigidos contra a toxina botulínica de tipo A1 não reconhecem a toxina botulínica de tipo A2, e vice-versa. (Sakaguchi et al, *Int. J. Food Microbiol.* (1990), 11, 231-242; Kozaki et al, *Microbiol. Immunol.* (1995), 39 (10), 767-74).

25 A presente composição de acordo com a invenção pode, além disso, compreender pelo menos um agente analgésico.

Dentre os agentes analgésicos que convêm de acordo com a presente invenção pode-se citar um agente analgésico escolhido dentre os inibidores dos canais sódicos.

A presente composição de acordo com a invenção pode, além

disso, compreender uma mistura de agentes analgésicos citados abaixo.

Por “inibidores dos canais sódicos”, entende-se, por exemplo, os seguintes compostos (eventualmente sob forma de sais farmacologicamente aceitáveis):

- 5 - a lidocaína;
- a tetracaína;
- a bupivacaína;
- a procaína;
- a mepivacaína; ou
- 10 - a dibucaína;

A presente composição de acordo com a invenção pode, além disso, compreender, pelo menos, um polissacarídeo ou uma mistura de vários polissacarídeos. Por polissacarídeo, entende-se na acepção da presente invenção, um polímero que compreende pelo menos 2 monômeros, os

15 monômeros sacarídeos. Esta definição inclui dissacarídeos.

No quadro da invenção, os polissacarídeos podem ser iônicos e/ou não iônicos.

De preferência, a composição compreende, pelo menos, um polissacarídeo que compreende majoritariamente unidades de glicose. O

20 termo majoritariamente significa que a glicose é majoritária em número de unidades de monômero.

Como exemplo de polissacarídeos que convêm, de acordo com a invenção, pode-se citar o amido, os derivados de amido, a hidroxietila amido em particular o 2-hidroxietil amido.

25 Os polissacarídeos que convêm, de acordo com a presente invenção, podem ser substituídos, em particular podem ser substituídos por radicais alquila, alcóxi, ou ainda radicais alquila eles próprios substituídos por funções álcoois.

De acordo com uma variante da invenção, a quantidade de

polissacarídeo compreendida na composição de acordo com a invenção é pelo menos de 1 µg de polissacarídeo para 1 unidade de toxina botulínica. De acordo com a escolha do polissacarídeo, é possível utilizar pelo menos 0,5 µg de polissacarídeo para 1 unidade de toxina botulínica.

5 A presente composição, de acordo com a invenção pode, além disso, compreender, pelo menos, um tensoativo ou uma mistura de vários tensoativos.

 Por agente tensoativo, entende-se na acepção da invenção um agente emulsionante ou um agente solubilizante.

10 No quadro da invenção tensoativos empregados podem ser escolhidos dentre os tensoativos catiônicos, aniônicas ou não-iônicos.

 De preferência a composição de acordo com a invenção compreende pelo menos um tensoativo escolhido dentre os tensoativos não-iônicos do grupo dos polissorbatos.

15 Dentre o grupo dos polissorbatos, pode citar o polissorbato 20, o polissorbato 21, o polissorbato 40, o polissorbato 60, o polissorbato 61, o polissorbato 65, o polissorbato 80, o polissorbato 81, o polissorbato 85, o polissorbato 120, o polissorbato 80 acetato.

20 O tensoativo preferido, de acordo com uma variante da composição de acordo com a invenção, é o polissorbato 80.

 A presente composição, de acordo com a invenção pode, além disso, compreender pelo menos um vasoconstritor ou uma mistura de vários vasoconstritores.

25 No quadro da invenção os vasoconstritores empregados podem ser escolhidos, por exemplo, dentre os vasoconstritores do tipo catecolaminas ou não-catecolaminas.

 Dentre os vasoconstritores que convém, de acordo com a presente invenção, pode-se citar, por exemplo, a epinefrina, a norepinefrina, a levonordefrina, as anfetaminas, a efedrina, a fenilefrina, a endotelina.

A composição de acordo com a invenção pode ser sob a forma de um sólido, por exemplo de pós, liofilizantes, grânulos, comprimidos ou lipossomas. A composição de acordo com a invenção sob forma sólida pode ser conservada, por exemplo, a temperaturas inferiores a 4° C, ou inferiores a 5 0° C sem que sua atividade biológica seja alterada.

A composição de acordo com a invenção pode se apresentar sob forma de uma dispersão aquosa, de partículas de neurotoxina botulínica em uma rede geleificada.

10 A composição de acordo com a invenção pode também se apresentar sob forma líquida, por exemplo, soluções, emulsões ou suspensões.

A administração da composição de acordo com a invenção fazer-se-á, de preferência, por injeção como, por exemplo, por injeção intramuscular ou sub-cutânea.

15 No caso de injeções, a composição de acordo com a invenção poderá ser associada a um agente que facilite a injeção ainda denominado veículo de injeção ou vetor de injeção.

De acordo com um modo de realização das composições de acordo com a invenção, a proporção das frações de unidade de neurotoxina botulínica de tipo A1 sobre neurotoxina botulínica de tipo Ax [unidades 20 A1/unidades Ax] pode ser compreendida entre 1/99 e 99/1, vantajosamente entre 5/95 e 95/5, ou entre 10/90 e 90/10.

De acordo com uma variante da composição de acordo com a invenção, a proporção das frações de unidade de neurotoxina botulínica de tipo A1 sobre neurotoxina botulínica de tipo Ax é de 50/50.

25 De acordo com outra variante da composição de acordo com a invenção, a proporção das frações de unidade de neurotoxina botulínica de tipo A1 sobre neurotoxina botulínica de tipo Ax é de 60/40.

De acordo com outra variante da composição de acordo com a invenção, a proporção das frações de unidade de neurotoxina botulínica de

tipo A1 sobre neurotoxina botulínica de tipo Ax é de 40/60.

A presente invenção tem igualmente por objeto a utilização de uma composição de acordo com a invenção, descrita acima, para a obtenção de um medicamento destinado a tratar os distúrbios musculares, os distúrbios neuromusculares, os distúrbios neurológicos, os distúrbios ortopédicos, os distúrbios oftalmológicos, as patologias articulares, os distúrbios endócrinos ou os distúrbios urológicos.

A presente invenção tem igualmente por objeto a utilização de uma composição de acordo com a invenção, descrita acima, para a obtenção de um medicamento destinado a tratar o torcicolo, o torcicolo espasmódico, os distúrbios locais da espasticidade dos membros superiores e/ou inferiores, a dor, a dor muscular, a dor devida a espasmos musculares, a dor miofacial, as dores pós-operatórias, os espasmos musculares, o espasmo hemifacial, o blefaroespasma, o estrabismo, a assimetria facial, a distonia muscular, a paralisia cerebral, as cefaléias, a enxaqueca, a fibromialgia, a mialgia, a hiperhidrose, a bromidrose, a coxartrose, a artrose do quadril, a epicondilite do cotovelo, a artrite, a artrite reumatóide, as discinesias, a acalásia, as disfunções dos esfíncteres de Oddi, o pancreatite, a gota, as fissuras anais, a constipação, o anismus, os espasmos da válvula pirólica, a bexiga espática, os espasmos da bexiga, a incontinência urinária, a retenção de urina, a hiperplasia prostática, a endometriose, psoríase, a rinite, a rinite alérgica, a obesidade, a hiperlacrimação, as fraturas ósseas, as rupturas dos tendões ou a patologia da coifa dos músculos rotacionais do ombro.

A presente invenção tem igualmente por objeto a utilização de uma composição de acordo com a invenção, descrita acima, para a obtenção de um produto cosmético.

A presente invenção tem igualmente por objeto a utilização de uma composição de acordo com a invenção, descrita acima, para tratar as linhas de expressão da face, as rugas da face, as rugas da pele, as rugas do

contorno do olho, os sulcos inter-sobrancelhas, a calvície, a acne, a transpiração excessiva ou a queda dos cabelos.

A presente invenção tem igualmente por objeto como medicamento, a composição de acordo com a invenção descrita acima.

5. A presente invenção tem igualmente por objeto uma composição farmacêutica que compreende a composição de acordo com a invenção descrita acima.

A dose da composição de acordo com a presente invenção, a prever para o tratamento doenças ou problemas mencionados acima, varia de acordo com o modo de administração, a idade e o peso corporal do paciente a tratar bem como o estado deste último, e será decidido em definitivo pelo médico ou o veterinário que trata. Tal quantidade determinada pelo médico ou pelo veterinário que trata é denominada aqui “quantidade terapeuticamente eficaz”.

15. A quantidade terapeuticamente eficaz que convém injetar varia igualmente de acordo com o número de músculos a tratar, bem como de acordo com a massa destes músculos.

De preferência, as doses de composição de acordo com a invenção injetadas serão compreendidas entre 5 e 2000 de Unidades de toxina botulínica, mais preferencialmente de 10 a 1000 Unidades de toxina botulínica, ainda mais preferencialmente de 25 a 500 Unidades de toxina botulínica.

Os exemplos seguintes ilustram a invenção sem limitar seu alcance.

25 EXEMPLOS

A quantificação das neurotoxinas botulínicas utilizadas de acordo com a invenção foi realizada pela medida de uma dose letal DL_{50} . Por DL_{50} entende-se na acepção da presente invenção a dose letal ou ainda dose semiletal de uma substância dada. Trata-se da dose (ou quantidade) que

conduz à morte de 50% dos animais testados de um grupo. Uma unidade de toxina (U) corresponde ao DL_{50} no rato por via intra peritoneal.

Composições utilizadas nos exemplos:

5 Abaixo são descritos os constituintes essenciais das composições utilizadas nos exemplos. Os outros constituintes presentes não foram precisados.

Composição A: - 250 unidades de neurotoxina botulínica de tipo A1
(Dysport®)

10 - 250 unidades de neurotoxina botulínica de tipo A2
 isolada a partir da cepa *Clostridium botulinum* NCTC9837

Composição B: - 500 unidades de neurotoxina botulínica de tipo A1
(Dysport®)

Exemplo 1: Blefaroespasma (dose 120 unidades):

15 Um paciente com idade de cinquenta anos sofrendo de Blefaroespasma, fechamento involuntário dos olhos que resulta da contração dos músculos situados em torno dos olhos, recebeu várias injeções intramusculares da composição A de acordo com a invenção, a dose total de composição A injetada sendo de 120 unidades de neurotoxina botulínica para um volume total de 1 ml.

20 O protocolo de injeção se desenrolou da seguinte maneira: uma agulha estéril é introduzida em um frasco que contém a composição A a fim de introduzir ali 2,5 ml de uma solução injetável de cloreto de sódio a 0,9%. Obtém-se assim uma solução límpida que contém 200 unidades/ml de neurotoxina botulínica.

25 Um paciente que sofre de blefaroespasma bilateral recebeu por injeção 120 unidades de neurotoxina botulínica (composição A) por olho (ou seja 0,6 ml, para a diluição de 1 frasco que contém 500 unidades de neurotoxina botulínica (composição A) em 2,5 ml). As injeções aconteceram, após limpeza da pele em torno dos olhos, pela via subcutânea com seringa de

1 ml (agulha calibre 23 ou 25).

Uma dose de 0,1 ml (20 unidades) de composição A foi injetada na parte interna e uma dose de 0,2 ml (40 unidades) de composição A na parte externa da junção entre as zonas pré-septais e orbitais dos músculos orbiculares superiores de cada olho. Da mesma maneira uma dose de 0,1 ml (20 unidades) de composição A foi injetada na parte interna e uma dose de 0,2 ml (40 unidades) de composição A na parte externa da junção entre as zonas pré-septais e orbitais dos músculos orbiculares inferiores de cada olho. Durante a injeção na pálpebra superior, a agulha deve ser orientada de preferência de modo que se evite o centro da pálpebra, parte onde se insere o músculo levantador da pálpebra. Durante as administrações posteriores, a dose total por olho poderá ser reduzida a 80 unidades (0,4 ml), ou seja 20 unidades por local de injeção (ou seja 0,1 ml).

Neste paciente a paralisia muscular começou cerca de 12 horas após o início do tratamento, e a paralisia durou cerca de 20 a 21 semanas. Nenhuma ptose parcial ou completa foi observada.

Em um outro paciente da mesma idade e que apresenta sintomas similares, com o mesmo protocolo mas utilizando a composição B com a mesma dosagem, a paralisia muscular começou cerca de 24 horas após o início do tratamento, e a paralisia durou cerca de 12 a 13 semanas.

Exemplo 2: Blefaroespasma (dose 60 unidades):

Um paciente com a idade de cinquenta anos sofrendo de Blefaroespasma, fechamento involuntário dos olhos que resulta da contração dos músculos situados em torno dos olhos, recebeu várias injeções intramusculares da composição A de acordo com a invenção, a dose total de composição A injetada de 60 unidades de neurotoxina botulínica para um volume total de 1 ml.

O protocolo de injeção desenrolou-se da seguinte maneira: uma agulha estéril é introduzida em um frasco que contém a composição A, a

fim de introduzir 2,5 ml de uma solução injetável de cloreto de sódio a 0,9%. Obtém-se assim uma solução límpida que contém 200 unidades/ml de neurotoxina botulínica.

Um paciente que sofre de blefaroespasma bilateral recebeu por
5 injeção 60 unidades de neurotoxina botulínica (composição A) por olho (ou seja 0,3 ml, para a diluição de 1 frasco que contém 500 unidades de neurotoxina botulínica (composição A) em 2,5 ml). As injeções aconteceram, após limpeza da pele em torno dos olhos, pela via subcutânea.

Uma dose de 0,05 ml (10 unidades) de composição A foi
10 injetada na parte interna e uma dose de 0,1 ml (20 unidades) de composição A na parte externa da junção entre as zonas pré-septais e orbitais dos músculos orbiculares superiores de cada olho. Da mesma maneira, uma dose de 0,05 ml (10 unidades) de composição A foi injetada na parte interna e uma dose de 0,1 ml (20 unidades) de composição A na parte externa da junção entre as zonas
15 pré-septais e orbitais dos músculos orbiculares inferiores de cada olho. Durante a injeção na pálpebra superior, a agulha deve ser orientada de preferência de modo que se evite o centro da pálpebra, parte onde se insere o músculo levantador da pálpebra. Durante as administrações posteriores, a dose total por olho poderá ser reduzida a 40 unidades (0,2 ml), ou seja 10
20 unidades por local de injeção (ou seja 0,05 ml).

Neste paciente, a paralisia muscular começou cerca de 24 horas após o início do tratamento, e a paralisia durou cerca de 12 a 13 semanas.

Os resultados são, conseqüentemente, semelhantes aos obtido
25 com a composição B, para uma dose de administração reduzida de 50% em número de unidade de toxina.

Exemplo 3: Torcicolo espasmódico

Uma paciente com idade de 35 anos, que sofre de torcicolo espasmódico, recebeu várias injeções intramusculares da composição A de

acordo com a invenção, a dose total de composição A injetada de 500 unidades de neurotoxinas botulínicas para um volume total de 1 ml.

O protocolo de injeção se desenrolou da seguinte maneira: uma agulha estéril é introduzida em um frasco que contém a composição A, a fim de introduzir 1 ml de uma solução injetável de cloreto de sódio a 0,9%. Obtém-se assim uma solução límpida que contém 500 unidades/ml de neurotoxina botulínica.

Uma paciente que sofre de torcicolo espasmódico recebeu por injeção 500 unidades de neurotoxina botulínica (composição A) ou seja 1 ml, para a diluição de 1 frasco de 500 unidades em 1 ml. A dose total foi repartida entre os 2 ou 3 músculos cervicais mais atingidos (externocleidomastoideo, esplênio, trapézio ou angular).

Nesta paciente a paralisia muscular começou cerca de 18 horas após o início do tratamento. A paralisia durou cerca de 20 a 21 semanas. Nenhuma disfagia foi constatada.

Em outra paciente da mesma idade e apresentando sintomas similares, com o mesmo protocolo, mas utilizando a composição B com a mesma dosagem, a paralisia muscular começou cerca de 48 a 60 horas após o início do tratamento, e a paralisia durou cerca de 12 a 13 semanas.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos:

- uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e

5 - uma neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1 caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos uma neurotoxina botulínica de tipo
10 A incluindo a seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 10% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.

3. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos

15 - uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e

- uma neurotoxina botulínica de tipo A2.

4. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos

20 - uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e

- uma neurotoxina botulínica de tipo A2 isolados a partir da cepa *Clostridium botulinum* NCTC9837.

5. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um agente analgésico.

25 6. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um polissacarídeo.

7. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um

polissacarídeo que é o 2-hidroxietil amido.

8. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um tensoativo, escolhido dentre os tensoativos catiônicos, aniônicos ou não-iônicos.

9. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um tensoativo escolhido dentre os tensoativos não-iônicos do grupo dos polissorbatos.

10. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um tensoativo que é o polissorbato 80.

11. Composição de acordo com uma das reivindicações precedentes caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um vasoconstritor.

12. Composição de acordo com uma das reivindicações 1 a 11, caracterizada pelo fato de que é usada a título de medicamento,.

13. Utilização de uma composição de acordo com uma das reivindicações 1 a 12, caracterizada pelo fato de que é para a obtenção de um medicamento destinado a tratar os distúrbios musculares, os distúrbios neuromusculares, os distúrbios neurológicos, os distúrbios ortopédicos, os distúrbios oftalmológicos, as patologias articuladas, os distúrbios endócrinos ou os distúrbios urológicos.

14. Utilização de uma composição de acordo com uma das reivindicações 1 a 12, caracterizada pelo fato de que é para a obtenção de um medicamento destinado a tratar o torcicolo, o torcicolo espasmódico, os distúrbios locais da espasticidade dos membros superiores e/ou inferiores, a dor, a dor muscular, a dor devida espasmos musculares, a dor miofacial, as dores pós-operatórias, os espasmos musculares, o espasmo hemifacial, o

blefaroespasma, estrabismo, a assimetria facial, distonia muscular, a paralisia cerebral, as cefaléias, a enxaqueca, o fibromialgia, a mialgia, a hiper-hidrose, a bromidrose, a coxartrose, a artrose do quadril, a epicondilite do cotovelo, a artrite, a artrite reumatóide, as discinesias, a acalásia, as disfunções dos esfíncteres de Oddi, a pancreatite, a gota, as fissuras anais, a constipação, o anismus, os espasmos da válvula pilórica, a bexiga espática, os espasmos da bexiga, a incontinência urinária, a retenção de urina, a hiperplasia prostática, a endometriose, a psoríase, a rinite, a rinite alérgica, a obesidade, a hiperlacrimação, as fraturas ósseas, as rupturas dos tendões ou a patologia da coifa dos músculos rotacionais do ombro.

15. Utilização de uma composição de acordo com uma das reivindicações 1 a 12 caracterizada pelo fato de que é para a obtenção de um produto cosmético.

16. Utilização de uma composição de acordo com uma das reivindicações 1 a 12 caracterizada pelo fato de que é para tratar as linhas de expressão da face, as rugas da face, as rugas da pele, as rugas do contorno do olho, os sulcos inter-sobrancelhas, a calvície, a acne, a transpiração excessiva ou a queda dos cabelos.

RESUMO**“COMPOSIÇÃO E UTILIZAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO”**

A presente invenção tem por objeto uma composição que compreende pelo menos: uma neurotoxina botulínica de tipo A1, e uma
5 neurotoxina botulínica de tipo A cuja seqüência de aminoácidos apresenta pelo menos 5% de diferença com a seqüência de aminoácidos da neurotoxina botulínica de tipo A1.