



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110913868 A

(43)申请公布日 2020.03.24

(21)申请号 201880034629.4

(22)申请日 2018.05.21

(30)优先权数据

62/510,455 2017.05.24 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.11.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2018/005758 2018.05.21

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2018/216974 K0 2018.11.29

(71)申请人 ATGC 股份有限公司

地址 韩国首尔

(72)发明人 张成洙 李学燮 安用植 金钟孝

申胜镇

(74)专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263

代理人 李献忠 张静

(51)Int.Cl.

A61K 31/728(2006.01)

A61K 38/48(2006.01)

A61K 9/08(2006.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 19/06(2006.01)

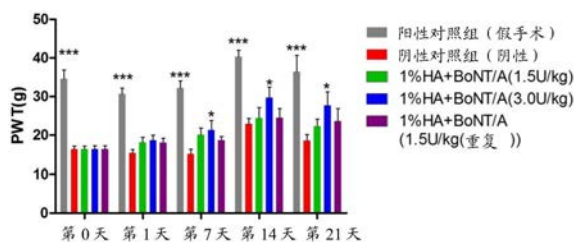
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

用于治疗足痛疾病的包括肉毒杆菌毒素和透明质酸的药物组合物以及使用其治疗足痛疾病的方法

(57)摘要

本发明涉及包括肉毒杆菌毒素和透明质酸的用于治疗足痛疾病的药物组合物,以及使用该药物组合物治疗足痛疾病的方法。更具体地,根据本发明的组合物可通过对诸如由足底筋膜炎、足筋膜炎、跟腱损伤、扁平足、糖尿病和痛风产生的疼痛之类的足痛疾病的炎症抑制作用而表现出增加抗炎和抗疼痛活性的协同作用。因此,预期本发明的组合物能够有效地作为液体注射剂皮下给药至足部,该液体注射剂表现出治疗或缓解足痛疾病的作用。



阴性对照组对比其它组, *: p<0.05, ***: p<0.001

1. 用于治疗足痛疾病的药物组合物,其包含透明质酸或其药学上可接受的盐和肉毒杆菌毒素。
2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述肉毒杆菌毒素是选自由A型肉毒杆菌毒素、B型肉毒杆菌毒素、C型肉毒杆菌毒素、D型肉毒杆菌毒素、E型肉毒杆菌毒素、F型肉毒杆菌毒素和G型肉毒杆菌毒素组成的组中的任何一种。
3. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述肉毒杆菌毒素的含量为约0.01至约250单位(U)。
4. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述肉毒杆菌毒素的含量为约0.01至约20单位(U)。
5. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中所述肉毒杆菌毒素是毒素蛋白或复合蛋白。
6. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中,所述透明质酸的分子量为1000kDa以下。
7. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中,所述透明质酸的含量为0.5重量%至5重量%。
8. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中,所述透明质酸的含量为0.5重量%至1重量%。
9. 根据权利要求1所述的药物组合物,其中,所述足痛是由选自由足底筋膜炎、足筋膜炎、糖尿病和痛风组成的组中的任一种所引起。
10. 一种治疗足痛的方法,其包括向受试者施用用于治疗足痛疾病的药物组合物的步骤,所述药物组合物包含透明质酸或其药学上可接受的盐和肉毒杆菌毒素。
11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述施用是对足部区域的皮下施用。
12. 根据权利要求10所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素的含量为0.01至250单位(U)。
13. 根据权利要求10所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素的类型是选自由A、B、C、D、E、F和G组成的组中的任何一种。
14. 根据权利要求10所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素的含量为0.01至20单位(U)。
15. 根据权利要求10所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素是毒素蛋白或复合蛋白。
16. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述透明质酸的分子量为1000kDa以下。
17. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述透明质酸的含量为0.5重量%至5重量%。
18. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述透明质酸的含量为0.5重量%至1重量%。
19. 根据权利要求10所述的方法,其中,所述足痛是由选自足底筋膜炎、足筋膜炎、糖尿病和痛风组成的组中的任一种所引起。
20. 用于治疗足痛疾病的药物组合物的用于制备足痛治疗剂的用途,所述药物组合物包含透明质酸或其药学上可接受的盐和肉毒杆菌毒素。
21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述治疗剂是液体。

用于治疗足痛疾病的包括肉毒杆菌毒素和透明质酸的药物组合物以及使用其治疗足痛疾病的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于治疗足痛疾病的包括肉毒杆菌毒素和透明质酸的药物组合物,以及使用该药物组合物治疗足痛疾病的方法。

背景技术

[0002] 肉毒杆菌毒素是由革兰氏阳性厌氧细菌肉毒梭状芽孢杆菌产生的神经毒素。肉毒杆菌毒素分为八种神经毒素,其中七种(A,B,C,D,E,F和G)可能会引起神经麻痹。其中,被称为天然生物制剂的最致命的肉毒杆菌毒素是A型,所述毒素蛋白大小为150kDa,并且与非毒素蛋白结合形成复合物,复合物的大小取决于神经毒素的类型,多达900kDa。

[0003] 肉毒杆菌毒素具有引起肌肉暂时性麻痹的作用,并且根据抑制运动神经末梢的神经肌肉接点处乙酰胆碱的分泌的机制(结合胆碱能末梢进入神经细胞)而引起局部肌麻痹。肉毒杆菌毒素具有抑制诸如由局部肌肉麻痹引起的慢性肌筋膜疼痛、下背部疼痛、肌肉僵硬和紧张型头痛之类的疼痛的作用,并通过抑制乙酰胆碱来阻断神经信号传导来抑制疼痛。

[0004] 肉毒杆菌毒素于1989年获得美国FDA批准上市,并已用于缓解斜视和眉间皱纹。肉毒杆菌毒素已用于治疗斜视,面部痉挛,眼睑痉挛,肌强直等,并且已用于美容目的,例如去除皱纹和方颌手术。

[0005] 肉毒杆菌毒素注射到肌肉和皮肤组织的持续时间在3到6个月内,注射效果在3天内开始,最大的效果在1-2周内出现。当通过抑制肉毒杆菌毒素抑制在神经肌肉接点处的乙酰胆碱的分泌来阻断信号传导时,会产生新的神经分支以减少肉毒杆菌毒素对神经麻痹的影响,因此,肉毒杆菌毒素需要定期给药。

[0006] 肉毒杆菌毒素可能会引起诸如头痛,上睑下垂(ptosis),吞咽困难和口干燥症等副作用,但肉毒杆菌毒素不会直接导致死亡,众所周知,以适当的剂量使用肉毒杆菌毒素不会产生安全性问题。但是,其应用针对孕妇或哺乳期妇女是受限的。

[0007] 足痛是发生炎症并伴随足部特定部位的疼痛的疾病,其实例包括足底筋膜炎,足筋膜炎,糖尿病性足神经痛,痛风引起的足痛疾病等。

[0008] 其中,作为代表疾病的足底筋膜炎是指位于脚底的称为足底筋膜的组织中发生炎症并引起疼痛的疾病。足底筋膜是一种坚硬的纤维组织,广泛分布在脚底,从五个脚趾下开始并汇聚成一个肌腱,然后附着在脚跟骨的前内侧区域,在站立或行走时在维持足弓方面起着重要作用,且当足底筋膜受伤时,可能会引起发炎和疼痛。因此,作为其原因,由于在足底筋膜附着于跟骨的区域受到压力的刺激而发生炎症,并且有时由于刺激周围神经而产生疼痛。在大多数情况下,超声检查通常用于诊断足底筋膜炎,通过观察足底筋膜附着在跟骨上的区域可以看出足底筋膜有多厚。此外,当发炎时,可以发现厚筋膜以及足底筋膜的反射。

[0009] 治疗足底筋膜炎的目的是减轻疼痛,保持活动能力并最大程度地减轻疾病。其治

疗方法的示例包括非药物治疗(调整运动量和方法,伸展运动,肌肉力量增强运动,佩戴辅助工具和调整鞋子)和药物治疗(非甾体类抗炎镇痛药,类固醇注射,体外冲击波治疗和手术治疗)。由于足底筋膜引起的炎症和疼痛是在日常生活中造成许多限制的疾病,因此长期服用所述药物会产生诸如肝毒性,肾功能衰竭,消化性溃疡和胃肠道出血等副作用,因此,迫切需要一种没有任何副作用而不是取决于药物的改善效果的治疗方法。

[0010] 为了减轻足底筋膜炎的炎症和疼痛,有报道通过单独施用肉毒杆菌毒素来减轻炎症以缓解疼痛。此外,有一项临床研究,其中当用肉毒杆菌毒素治疗足底筋膜炎时,与类固醇制剂相比效果得到改善。另外,有报道通过使用透明质酸抑制炎症的主要细胞因子IL-1 β 而发挥抗炎作用。

[0011] 在足底筋膜炎的早期阶段,可以使用非药物疗法缓解症状,但是伴有炎症和疼痛的慢性疾病应通过药物治疗和足底皮下注射疗法进行治疗。由于迄今为止,尚无使用肉毒杆菌毒素和透明质酸的混合组合物作为预防和/或治疗足痛疾病(例如由足底筋膜炎,足筋膜炎,和糖尿病足神经痛引起的足痛以及痛风引起的足痛病)的药物而被批准和商业销售的产品,需要一种混合肉毒杆菌毒素和透明质酸的足底皮下注射制剂。

发明内容

[0012] 【技术问题】

[0013] 为了解决上述问题而构思了本发明,并且本发明人已经做出了巨大的努力来寻找能够减轻由于慢性足底筋膜炎引起的炎症和疼痛并保持其功能的注射制剂,并因此证实了本发明的肉毒杆菌毒素和透明质酸复方制剂具有缓解由于足底筋膜炎引起的炎症和疼痛的作用,从而完成了本发明。

[0014] 因此,本发明的一个目的是提供一种用于治疗足痛疾病的药物组合物,包括透明质酸或其药学上可接受的盐和肉毒杆菌毒素。

[0015] 本发明的另一个目的是提供一种治疗足痛的方法,该方法包括向受试者施用一种用于治疗足痛疾病的药物组合物的步骤,包括该组合物或其药学上可接受的盐。

[0016] 本发明的另一个目的是提供用于治疗足痛疾病的药物组合物用于制备足痛治疗剂的用途。

[0017] 然而,本发明要解决的技术问题不限于上述问题,并且本领域技术人员根据以下描述可以清楚地理解未提及的其他问题。

[0018] 【技术方案】

[0019] 为了实现如上所述的本发明的目的,本发明提供了一种用于治疗足痛疾病的药物组合物,包括透明质酸或其药学上可接受的盐和肉毒杆菌毒素。

[0020] 作为本发明的一实施方案,肉毒杆菌毒素可以是A,B,C,D,E,F或G型,优选A型。

[0021] 作为本发明的另一实施方案,肉毒杆菌毒素的含量可以为0.01至250单位(U),优选为0.01至20单位(U)。

[0022] 作为本发明的另一实施方案,肉毒杆菌毒素可以是毒素蛋白或复合蛋白。

[0023] 作为本发明的又一实施方式,透明质酸的分子量可以为1000KDa以下。

[0024] 作为本发明的另一实施方案,透明质酸的含量可以为0.5重量%至5重量%,优选为0.5重量%至1重量%。

[0025] 作为本发明的另一实施方案,足痛可以由选自由足底筋膜炎,足筋膜炎,糖尿病和痛风组成的组中的一种或多种引起。此外,本发明提供了一种治疗足痛疾病的方法,该方法包括将药物组合物施用于受试者的步骤。

[0026] 作为本发明的一实施方案,所述施用可以是皮下施用到足部区域。

[0027] 作为本发明的另一实施方案,肉毒杆菌毒素可以是A,B,C,D,E,F或G型,优选A型。

[0028] 此外,本发明提供了该组合物用于制备用于足痛疾病的治疗剂的用途。

[0029] 作为本发明的一实施方案,治疗剂可以是液体。

[0030] **【有益效果】**

[0031] 本发明涉及用于治疗足痛疾病的组合物,其包括肉毒杆菌毒素和透明质酸。更具体地,根据本发明的组合物可以通过对诸如由足底筋膜炎、足筋膜炎、跟腱损伤、扁平足、糖尿病和痛风产生的疼痛之类的足痛疾病的炎症抑制作用而表现出增加抗炎和抗疼痛活性的协同作用。因此,预期根据本发明的组合物能够有效地作为液体注射剂皮下给药至足底,该液体注射剂具有治疗或减轻足痛疾病的作用。

附图简要说明

[0032] 图1是图示说明通过冯·弗雷 (Von Frey) 试验的本发明组合物的疼痛减轻程度的图。

具体实施方式

[0033] 本发明人特别确认了本发明的肉毒杆菌毒素和透明质酸复方制剂可以缓解足痛病的炎症和疼痛并保持其功能,从而基于此完成了本发明。

[0034] 在下文中,将详细描述本发明。

[0035] 本发明提供了用于治疗足痛疾病的药物组合物,其包括肉毒杆菌毒素或其药学上可接受的盐,以及透明质酸或其药学上可接受的盐。

[0036] 根据本发明的药物组合物可以是液体,并且可以优选地配制成注射剂型。此外,可将组合物皮下施用至足部区域以治疗足部疼痛,并且优选皮下施用至足底以治疗足底筋膜炎,但不限于此。

[0037] 如本文所用,术语“肉毒杆菌毒素”是指可以由细菌产生或通过重组技术产生的一种肉毒杆菌毒素,但是包括任何已知类型的肉毒杆菌毒素及其修饰的变体或其融合蛋白,以及随后可能发现的任何类型的肉毒杆菌毒素。肉毒杆菌毒素分为八种神经毒素,其中七种肉毒杆菌毒素血清型A,B,C,D,E,F和G可能引起神经麻痹。将该蛋白分类为包含复合物的蛋白和不包含复合物的蛋白,并且纯毒素蛋白质的分子量为150KDa,并且根据是否形成复合物,生产300KDa,500KDa和900KDa的各种蛋白质。

[0038] 可替代地,本发明的组合物中使用的肉毒杆菌毒素可以是肉毒杆菌毒素衍生物,即具有肉毒杆菌毒素活性,但是与天然或重组原型肉毒杆菌毒素相比包括一种或多种化学修饰或功能修饰的化合物。例如,肉毒杆菌毒素可以是修饰的神经毒素(例如,与原型神经毒素或通过重组产生的神经毒素、其衍生物或其片段相比,具有一种或多种氨基酸缺失、修饰或替代的神经毒素)。例如,肉毒杆菌毒素可以是增强其特性或减少其不良副作用的,但是仍以仍保持优选的肉毒杆菌毒素活性的方式被修饰的肉毒杆菌毒素。备选地,肉毒杆菌毒素可以是使用重组或合成化学技术产生的毒素(例如,重组肽,融合蛋白或杂化神经毒素,

其是从不同的肉毒杆菌毒素血清型亚基或结构域制备的(参见,例如,US专利号6,444,209)。肉毒杆菌毒素也可以是已被证明具有所需肉毒杆菌毒素活性的整个分子的一部分,并且可以原样使用或作为组合或缀合分子的一部分使用,例如,在这种情况下作为融合蛋白使用。此外,肉毒杆菌毒素可以是肉毒杆菌毒素的前体形式,其本身可以是无毒的,例如,无毒的锌蛋白酶,其在被蛋白质水解分解时可能有毒。

[0039] 如本文所用,“透明质酸”是包括氨基酸和糖醛酸的复合多糖之一,并且具有低分子量(500KDa至1000KDa),其大小与人体内存在的透明质酸的大小相同,因此不仅是生物安全的,而且在皮下注射期间滑膜液的炎症水平降低和流变性恢复方面相比于高分子量透明质酸更为有效。另一方面,高分子量透明质酸(2300KDa以上)的优点在于,由于高粘弹性而可以降低给药频率。

[0040] 如本文所用,“透明质酸的药学上可接受的盐”和“肉毒杆菌毒素的药学上可接受的盐”是指被公认通常用于动物(特别是人)的盐,且用于产生碱加成盐的盐的实例包括无机盐,例如锂盐,钠盐,钾盐,钙盐,镁盐或铝盐,或有机盐,例如乙胺,二乙胺,乙二胺,乙醇胺,二乙醇胺,精氨酸,赖氨酸,组氨酸或哌嗪;酸加成盐的实例包括有机盐,例如乙酸盐,柠檬酸盐,乳酸盐,丙二酸盐,马来酸盐,酒石酸盐,富马酸盐,苯甲酸盐,天冬氨酸盐,谷氨酸盐,琥珀酸盐,油酸盐,三氟乙酸盐,草酸盐,双羟萘酸盐或葡萄糖酸盐,无机盐例如氯化物,硫酸盐,硼酸盐或碳酸盐等,但实例不限于此。在盐是药学上可接受的假设下,盐的特性不是重要因素。本发明组合物的药学上可接受的盐可以通过本领域众所周知的典型方法获得。

[0041] 除了活性成分之外,本发明的药物组合物还可包含药学上可接受的载体。在这种情况下,药学上可接受的载体通常在配制制剂过程中使用,包括乳糖,葡萄糖,蔗糖,山梨糖醇,甘露糖醇,淀粉,阿拉伯胶,磷酸钙,藻酸盐,明胶,硅酸钙,微晶纤维素,聚乙烯吡咯烷酮,纤维素,水,糖浆,甲基纤维素,羟苯甲酸甲酯,羟苯甲酸丙酯,滑石粉,硬脂酸镁,矿物油等,但不限于此。此外,除了上述成分以外,药学上可接受的载体还可以包括润滑剂,润湿剂,甜味剂,调味剂,乳化剂,悬浮剂,防腐剂等。

[0042] 本发明的药物组合物以药学有效量施用。在本发明中,“药学有效量”是指足以适用于医疗的合理的受益/风险比治疗疾病的量,并且可以根据患者疾病的类型和严重性、药物活性、患者的药物敏感性、给药时间、给药途径和释放速率、治疗持续时间、包括与本发明的组合物同时使用的药物在内的因素或其他在医学领域众所周知的因素来确定有效剂量的水平。根据本发明的药物组合物可以作为单一治疗剂施用或与其他治疗剂组合施用,可以与相关技术中的治疗剂顺序或同时施用,并且可以单剂量或多剂量施用。考虑到所有上述因素,重要的是以可以在没有任何副作用的情况下获得最大效果的最小量施用组合物,并且该量可以由本领域技术人员容易地确定。

[0043] 在本发明中要治疗的疾病“足底筋膜炎”统称为其中由于从脚跟连接到脚趾的筋膜上的反复应力而引起疼痛并在脚踩在地面上时发生剧烈疼痛的疾病,并且可以包括足部疼痛疾病,例如由足筋膜炎引起的疼痛,由跟腱损伤引起的疼痛,由扁平足引起的疼痛,糖尿病性足神经疼痛和由痛风引起的疼痛,但不限于此。

[0044] 同时,本发明的另一方面提供了一种治疗足底筋膜炎的方法,该方法包括将所述组合物施用于受试者的步骤。

[0045] 在本发明中，“受试者”是指需要治疗疾病的受试者，更具体地说，是指哺乳动物，例如人或非人灵长类动物，小鼠，大鼠，狗，猫，马和牛。

[0046] 应用于本发明的“局域性施用” (local administration) 是指将药物直接施用到需要药物的生物学作用的动物体内或身上的区域中或附近。局域性施用不包括全身性施用的途径，例如静脉内施用或口服施用。局域性施用形式包括局部给药 (topical administration)，其中将药物形成物皮下施用到人足底。对于施用，优选可以通过足底皮下注射来施用其中活性成分肉毒杆菌毒素和透明质酸成分混合的形式的组合物，并且每三个月重复施用一次或两次足以进行治疗。

[0047] 根据本发明的组合物的活性成分剂量根据多种因素而变化，例如患者的年龄，疼痛程度和发作时间。根据基于A型肉毒杆菌毒素的活性成分，可施用约0.01至约250单位 (U)，优选约0.01至100单位 (U)，更优选0.01至50单位 (U)，甚至更优选0.01至20单位 (U) 的肉毒杆菌毒素。剂量可以由本领域技术人员根据患者的状况和体重，疾病的严重程度，药物形式，给药途径和时间适当选择。

[0048] 本发明的透明质酸成分可以约0.5重量%至约5重量%，优选约0.5重量%至约3重量%，更优选约0.5重量%至约1重量%的量施用。

[0049] 对于施用，将通过将活性成分肉毒杆菌毒素与透明质酸成分混合而获得的药物组合物皮下注射到足底，并且每三个月重复施用一次至两次足以进行治疗。

[0050] 在该方法中，透明质酸可通过在足底皮下执行润滑作用和缓冲作用来缓解疼痛和治疗炎症，肉毒杆菌毒素将能够通过抑制乙酰胆碱来阻止疼痛的神经元信号传导而促进功能并减轻痛苦。由于使用本发明的组合物可以减少口服药物的使用，因此可以减少口服药物的人体副作用。

[0051] 在本发明中，肉毒杆菌毒素和透明质酸可以药物组合物的混合物形式皮下施用到足底。

[0052] 根据本发明的组合物可用于生产用于足部疼痛的治疗剂的用途，在这种情况下，治疗剂可优选为液体，更优选为液体注射剂。

[0053] 在下文中，将提出用于帮助理解本发明的优选实例。然而，提供以下实施例仅是为了更容易理解本发明，并且本发明的内容不受以下实施例的限制。

[0054] 实施例1. 实验准备和实验方法

[0055] 1-1. 生产实验材料

[0056] 将透明质酸 (HA) 溶解在50mM磷酸钠缓冲液 (pH 6.8) 中，以获得10mg/ml的浓度。在给药当天测量动物的体重后，根据测试组的平均体重将A型肉毒杆菌毒素 (BoNT/A) 分别放入制备的透明质酸中，使得A型肉毒杆菌毒素 (BoNT/A) 的最终给药量为1.5U/kg和3.0U/kg，将所得混合物搅拌并混合30分钟。

[0057] 1-2. 动物模型

[0058] 对于本实验的动物模型，通过皮下注射途径将100 μ l (1mg/mL) 弗氏完全佐剂 (FCA) 施用到Sprague-Dawley (SD) 大白鼠的右后爪掌来诱导模型。对于组构建，产生总共5组：空白假手术组 (naïve sham)，其中未诱导模型；阴性对照组，其中诱导了模型，然后施用50 μ l的50mM磷酸钠缓冲液 (pH 6.8)；测试组 (1%HA+1.5U/kg BoNT/A)，其中诱导了模型，然后施用一次50 μ l的HA+BoNT/A (0.5mg的1%HA, 0.454单位BoNT/A (基于300克动物体重)；测试组

(1%HA+3.0U/kg BoNT/A),其中施用一次50 μ l的HA+BoNT/A(0.5mg的1%HA,0.909单位BoNT/A(基于300克动物体重));和测试组(1%HA+1.5U/kg BoNT/A),其中每隔一周施用两次50 μ l的HA+BoNT/A(0.5mg的1%HA,0.454单位的BoNT/A(基于300g动物体重)),并且向属于空白假手术组的5只动物以及阴性对照和测试组中每个组的10只动物的右后爪掌皮下施用测试材料。

[0059] 在将测试材料皮下施用到足底之前,在施用弗氏完全佐剂(FCA)后的第二天,使用缩足阈值(PWT)测试进行了3次测量,以评估模型诱导和诱导程度的确认,并使用测量值进行分组。分组后,向引起炎症的右后爪底部施用约50 μ l的测试材料,观察动物21天,在仅对测试组施用弗氏完全佐剂(FCA)后,在第7天进行PWT测试,然后进行二次给药。

[0060] 1-3. 缩足阈值(PWT)测试

[0061] 为了在使用FCA诱导模型的实施例确认足底筋膜炎的治疗功效,进行了PWT试验作为测量疼痛的参数。

[0062] 对于PWT测试,通过使用动态足底触觉仪(UGO BASILE37450,意大利)通过冯·弗雷细丝施加物理刺激来测量抑制急性疼痛的效果。将每一只动物放入丙烯酸笼子的一个隔间中,静置15分钟,以使大鼠适应新的环境。适应环境后,将触觉仪设置为0到50g和0到20秒,并且作为测量刺激器刺激的异常性疼痛的方法,通过以0g至50g的强度刺激患侧足底区域,每隔5分钟测量3次缩足反应的后爪缩回阈值(在试验躯体逃避刺激器时的力:克)。在施用FCA后的第1、2、7、14和21天测量PWT测试。

[0063] 实施例2. 确认肉毒杆菌毒素和透明质酸复方制剂在FCA诱导的足部痛觉过敏模型中抑制足部疼痛的作用

[0064] FCA是当通过皮下途径施用于后爪足底时通过引起炎症反应而诱导疼痛的材料,其已被广泛用于研究疼痛和评估在FCA诱导的动物模型中的功效,特别适合用于通过在足底引起炎症来评估诸如足底筋膜炎之类的足痛疾病的程度。因此,为了使用FCA诱导的模型确认HA+BoNT/A对足部疼痛治疗的影响,通过实施例1中的方法测试了冯·弗雷试验作为用于测量疼痛的参数。

[0065] 2-1冯·弗雷试验

[0066] 为了评估施用FCA后模型诱导的确认程度和程度,通过实施例1-3中的方法进行了冯·弗雷(Von Frey)试验,在这种情况下,图表上的数值越高,表现出减轻疼痛的效果越好。

[0067] 图1中的数据显示为平均值 \pm 标准差(sd),为了进行统计分析,将最小显著性差异(LSD)用作SPSS单因素方差(ANOVA)分析和事后分析。结果,如图1所示,在给药后第0天,可以证实测试组(HA+BoNT/A组)和阴性对照组(FCA诱导的组)均表现出与阳性对照组(假手术组)有显著差异,因此可以看出已经诱导了模型,并且通过使疼痛评估平均数值相等,可以将各组分开。此外,在给药后第7、14和21天进行冯·弗雷试验,结果是当将测试组(1%HA+3.0U/kg BoNT/A(其中诱导了模型,然后施用一次50 μ l的HA+BoNT/A(0.5mg 1%HA,0.909单位BoNT/A(基于300g动物体重)))与阴性对照组(其中诱导了模型,然后施用50 μ l的50mM磷酸钠缓冲液(pH 6.8))进行比较时,显示出统计学上显著的降低疼痛测量数值的趋势,并且显示出根据HA+BoNT/A浓度增加疼痛测量平均值的趋势,其是统计学上非显著性的。

[0068] 根据该结果,证实了在对后爪底的皮下给药期间,HA+BoNT/A组具有抑制疼痛的作

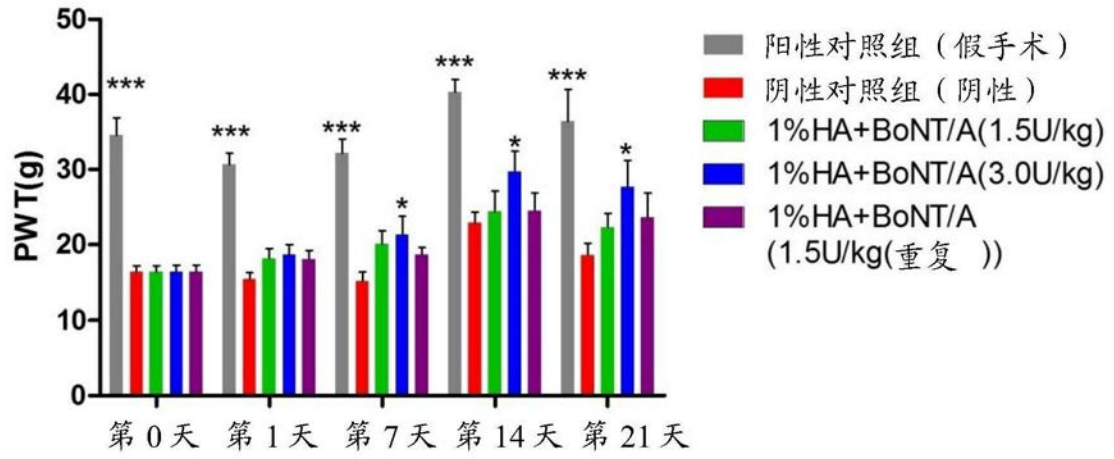
用。

[0069] 因此,当同时使用肉毒杆菌毒素和透明质酸时,该同时使用显示出对止痛作用的效果,因此期望能够有效地用于减轻足部区域的疼痛。

[0070] 提供本发明的上述描述是出于说明性目的,并且本发明所属领域的技术人员将理解,在不改变本发明的技术精神或基本特征的情况下,可以容易地将本发明修改为其他特定形式。因此,应当理解,上述示例在所有方面仅是示例性的,而不是限制性的。

[0071] **【工业实用性】**

[0072] 本发明涉及用于治疗足部疼痛疾病的组合物,其包括肉毒杆菌毒素和透明质酸,并且预期本发明的组合物能够作为液体注射剂有效地皮下应用于足底,表现出治疗或减轻足痛疾病的效果,足痛疾病为例如由足底筋膜炎,足筋膜炎,跟腱损伤,扁平足,糖尿病和痛风引起的疼痛。



阴性对照组对比其它组, *: p<0.05, ***: p<0.001

图1