(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 109414434 A
(43)申请公布日 2019.03.01

(21)申请号 201780041576.4

(22)申请日 2017.05.15

(30)优先权数据
62/336,344 2016.05.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.01.03

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/032636 2017.05.15

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/197382 EN 2017.11.16

(71)申请人 德尔诺瓦股份有限公司
地址 美国伊利诺斯州

(72)发明人 M.加德纳

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 刘蕾

(51)Int.Cl.
A61K 31/4425(2006.01)
A61K 31/27(2006.01)

权利要求书2页 说明书11页 附图3页

(54)发明名称

化学去神经化所致的副作用的治疗

(57)摘要

本公开大体上涉及通过对无反应肌肉局部施用有效剂量的包含抗胆碱酯酶剂的组合物来恢复神经肌肉传递的方法。本公开还涉及逆转神经毒素引发的肌肉麻痹或肌无力的方法,所述方法包括对患者局部施用包含抗胆碱酯酶剂的组合物。

CN 109414434 A

1.通过对无反应肌肉局部施用有效剂量的包含抗胆碱酯酶剂的组合物来恢复神经肌肉传递的方法,其中所述无反应肌肉先前已暴露于神经毒素。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述神经毒素包括肉毒杆菌毒素。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素是A型肉毒杆菌毒素。

4.治疗肉毒杆菌毒素引发的肌肉麻痹或肌无力的方法,所述方法包括对患者局部施用包含抗胆碱酯酶剂的组合物。

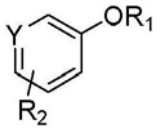
5.如权利要求4所述的方法,其中所述肉毒杆菌毒素是A型肉毒杆菌毒素。

6.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂是具有选自以下的一个或多个基团的可逆抗胆碱酯酶剂:氨基甲酸盐、叔铵和季铵。

7.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂选自以下中的一种或多种:新斯的明、腾喜龙、吡啶斯的明、毒扁豆碱、利斯的明、多奈哌齐、加兰他敏及其组合。

8.如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂是吡啶斯的明。

9.如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂为下式:



(I)

或其药学可接受盐,其中

Y是CR^3或$N^+X^-R^4$,其中X是卤素;

R_1选自氢、C_1-C_6烷基、-CO(OH)、-CO(C_1-C_6烷氧基)、-CO(NH_2)、-CONH(C_1-C_6烷基)和-CON(C_1-C_6烷基)$_2$;

R_2是氢,或R_2和R_3与其所连接的原子共同形成任选取代的杂环;

R_3选自C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、羟基C_1-C_6烷基、氨基C_1-C_6烷基、(C_1-C_6烷基氨基)C_1-C_6烷基、(二C_1-C_6烷基氨基)C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基C_1-C_6烷基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)、-N(C_1-C_6烷基)$_2$和-N^+(C_1-C_6烷基)$_3X^-$;和

R_4选自C_1-C_6烷基、羟基C_1-C_6烷基或C_1-C_6烷氧基C_1-C_6烷基。

10.如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述组合物被直接施用到受影响的肌肉。

11.如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述组合物被肠胃外施用(例如,通过肌内注射)。

12.如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述组合物是透皮施用的(例如,局部或贴剂)。

13.如权利要求12所述的方法,其中所述透皮施用是透皮贴剂或透皮凝胶。

14.如权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述组合物是持续释放组合物。

15.如权利要求14所述的方法,其中所述释放在1日、7日或30日或其任何组合的时期进行。

16.如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述组合物是单相凝胶组合物,其还包含20-80wt%的磷脂和0.1-65wt%的水。

17.如权利要求16所述的方法,其中所述凝胶组合物能通过约30G至约33G的针挤出。

18.如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂以如下剂量施用:约

0.05-0.5mg/kg,或约0.15-0.25mg/kg,或约0.2mg/kg。

19.如权利要求1-18中任一项所述的方法,其中所述抗胆碱酯酶剂是以低剂量施用。

20.如权利要求19所述的方法,其中所述低剂量是当所述抗胆碱酯酶剂以口服或静脉内施用来给药时的抗胆碱酯酶剂临床剂量的约4/5至1/50。

化学去神经化所致的副作用的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2016年5月13日提交的美国临时专利申请第62/336,344号的权益，该申请通过引用以其整体并入本文。

[0003] 发明背景

发明领域

[0004] 本公开大体上涉及通过对无反应肌肉局部施用有效剂量的包含抗胆碱酯酶剂的组合物来恢复神经肌肉传递的方法。本公开还涉及治疗神经毒素引发的肌肉麻痹或肌无力的方法，所述方法包括对患者局部施用包含抗胆碱酯酶剂的组合物。

背景技术

[0005] 肉毒杆菌毒素已被用于治疗逾20种医学和美容适应症。肉毒杆菌毒素是一种神经冲动“阻断剂”。其附着到神经末端并阻止激活肌肉的化学递质的释放。这些化学品携带来自大脑的、告诉肌肉收缩的“信息”。如果信息被阻断了，则肌肉就不会收缩。

[0006] 局部施用肉毒杆菌毒素的目标在于实现肌肉松弛而不是肌肉不动或完全阻断。但是在一些情况中观察到肉毒杆菌毒素的作用超出了局部注射部位并且被称为毒素作用蔓延。肉毒杆菌毒素的副作用可能是潜在危及生命的，在有些情况中是临时性毁容。临时但毁容的副作用包括：“眼皮下垂”(眼睑下垂)，这是因神经毒素渗入抬高眼睑的肌肉中所致；或者被称为“冻脸”、“弓形眉或下垂眉”、唇部浮肿或肿胀的其他意外的筋膜肌肉副作用；以及在一些情况中，如医学程序所涉及的疼痛或肌无力。现在还没有被批准可用于治疗(例如挽救)肉毒杆菌毒素作用的产品。

发明内容

[0007] 本发明人已发现外周性(即，局部)作用的抗胆碱酯酶剂可用作神经毒素挽救剂(rescue agent)。

[0008] 肉毒杆菌毒素在突触前作用以阻断乙酰胆碱(ACh)从突触的释放或胞外分泌(图1)。一旦将肉毒杆菌毒素注射入肌肉中，神经毒素被带入神经末梢。其通过裂解SNAP-25(一种对于囊泡与神经末梢的对接非常重要的蛋白质)而阻止了包含乙酰胆碱的突触囊泡的结合。因此，抑制了向突触间隙中的神经递质释放，并且不能发生肌肉收缩。

[0009] 研究已显示了神经肌肉接头处的神经末梢在肉毒杆菌神经毒素阻断神经传递之后抽芽(sprout)的能力。在肉毒杆菌毒素使运动神经末端中毒之后发生的抽芽具有形成功能性突触的能力，因为其提供了胞外分泌所必须的关键蛋白。抽芽形成以释放ACh和引导电活动(de Paivaetal.(1999)Proc.Natl.Acad.Sci.96(6):3200-3205)。尽管触发这种结果所涉及到的因素尚未被完全了解，有证据表明一旦恢复了原始神经活性，则抽芽最终会衰退。可通过用乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制正常发生的降解而提高突触ACh浓度。AChE是一种触发ACh迅速降解的强效酶。乙酰化酶被迅速水解，同时形成游离酶和乙酸。在每个活性位点

中每秒水解约10000个乙酰胆碱分子(Čolovićet al.(2013)Current Neuropharmacology 11(3):315-335)。

[0010] 非去极化神经肌肉阻断药(NMBDs)作为竞争性拮抗剂与受体结合,因此阻断ACh的结合并阻止其使受体去极化的能力。非去极化NMBDs不会影响受体中的构象变化。肉毒杆菌毒素被认为是非去极化的,然而与NMBDs相比,其具有不同的作用机理。在AChE受体位点处不存在竞争性阻断。尽管如此,ACh受体以非敏化状态被捕获,而非与ACh结合。

[0011] ACh跨膜扩散,在运动终板处与受体结合,并且触发肌动电位。突触间隙中的AChE破坏ACh并分解为乙酸盐和胆碱。胆碱随后被重新吸收以合成新的ACh。胆碱酯酶抑制剂(也称为抗胆碱酯酶剂)通过使AChE钝化而间接作用。具体而言,胆碱酯酶抑制剂破坏突触间隙中的AChE,以使其不能攻击已存在的ACh分子。将抗胆碱酯酶剂/胆碱酯酶抑制剂递送到突触间隙中将延长ACh的寿命,从而提高其浓度,并使其能够与ACh受体结合。施用的时机很重要,因为当其在麻醉中使用时,"不应尝试用抗胆碱酯酶剂进行神经肌肉阻断的拮抗,直到可检测到四个成串(train-of-four)抽搐反应的两次抽搐,否则其将是无效的"(Srivastava and Hunter(2009)British Journal of Anesthesia,103(1):1115-29)。该指南建议必须等待从引发的神经肌肉阻断中恢复的证据。为使恢复发生,必须存在ACh。在肉毒杆菌毒素使末端中毒的情况中,这指的是部分阻断的前置条件或者在神经肌肉阻断剂作用之后神经肌肉功能的自发恢复需要提高乙酰胆碱的浓度。

[0012] 发明人已发现对受影响的患者靶向局部肠胃外施用抗胆碱酯酶剂逆转/减轻/治疗了肌肉化学去神经化(muscle chemical denervation),诸如,施用肉毒杆菌毒素所致者。将抗胆碱酯酶剂靶向施用(例如,通过使用小剂量)到受折磨的组织/肌肉逆转了不想要的作用。本文所阐述的方法最小化了全身副作用(诸如,源于口服剂型中首过代谢的那些或者源于较高静脉剂量的副作用)的可能性。此外,使用靶向药物递送允许逆转受损害的区域而不会影响最初目标用于治疗的主要区域。

[0013] 因此,在一个方面,本公开提供了通过对无反应肌肉局部施用有效剂量的包含抗胆碱酯酶剂的组合物来恢复神经肌肉传递的方法。

[0014] 在另一方面,本公开提供了治疗神经毒素引发(例如,肉毒杆菌毒素引发)的肌肉麻痹或肌无力的方法,所述方法包括对患者局部施用包含抗胆碱酯酶剂的组合物。

附图说明

[0015] 附图被包含以提供对本公开方法和设备的进一步理解,并且被并入和构成本说明书的一部分。附图说明了本公开的一个或多个实施方式,并且与说明书一起用于解释本公开的原理和操作。

[0016] 图1说明了肉毒杆菌毒素的作用机理。

[0017] 图2显示了仅用保妥适(BOTOX)治疗(即,不用抗胆碱酯酶剂治疗)的大鼠的食物摄入。

[0018] 图3显示了在用抗胆碱酯酶剂治疗的大鼠的保妥适注射后在第2、7、9、11和14日的食物摄入,以及不用抗胆碱酯酶剂治疗的大鼠的食物摄入。

[0019] 图4是在用抗胆碱酯酶治疗的大鼠的保妥适注射后在第2、7、9、11和14日的食物摄入以及不用抗胆碱酯酶剂治疗的大鼠的食物摄入的线形图。

[0020] 图5在用较高剂量给药方案的抗胆碱酯酶剂治疗的大鼠的保妥适注射后的食物摄入以及不用抗胆碱酯酶剂治疗的大鼠的食物摄入的线形图。

具体实施方式

[0021] 在描述所公开的方法和材料之前，应理解本文所述方面不限于具体实施方式、设备或结构，并且因此当然可变。还应理解本文所用术语仅出于描述具体方面的目的，并且除非本文明确定义，其并非旨在限制。

[0022] 纵观本说明书，除非上下文明确另外要求，术语“包括(comprise)”和“含有(include)”以及变体(例如，“comprises”、“comprising,”“includes,”“including”)应被理解为包含所述组分、特征、要素或步骤或者组分、特征、要素或步骤的组合，但是不排除任何其他整体或步骤或者整体或步骤的组合。

[0023] 如说明书和所附权利要求中所用的，单数形式“一/一个/一种”和“所述/该”包括复数指代物，除非在上下文中明确表示相反。

[0024] 范围在本文中可表达为从“约”一个特定值和/或到“约”另一个特定值。当表达这样的范围时，另一方面包括从一个特定值和/或到另一特定值。类似地，当使用前置词“约”将数值表达为近似数时，应理解为该特定值形成了另一方面。还应理解每个范围的端点相对于另一端点，并且独立于另一端点是重要的。

[0025] “有效量”是指当施用给受试者时，化合物的量足以有效治疗本文所述状况。构成“有效量”的化合物的量将取决于化合物、病症及其严重度以及待治疗受试者的年龄而变，但是可由本领域技术人员按惯例确定。

[0026] 本文所用的术语“肌肉麻痹”表示肌肉功能完全丧失。肌肉麻痹可能伴有受影响区域中的感觉丧失(知觉丧失)。

[0027] 本文所用的术语“肌无力”表示肌肉功能部分丧失和/或肌肉力量丧失。

[0028] 本文所用的术语“化学去神经化(chemical denervation/chemodenervation)”表示因药剂(例如，化学化合物)导致的神经分布丧失(即，神经传递阻断)。

[0029] 关于本公开，本文所述的方法和活性材料可由本领域技术人员构造以符合理想需求。通常，所公开的材料、方法和设备提供了抗胆碱酯酶剂对受影响患者的靶向局部肠胃外施用以在药物引发的无反应肌肉中恢复神经肌肉传递。

[0030] 神经毒素肉毒杆菌在美容和医学程序中广泛使用。临时但不理想的副作用源于毒素对邻近肌肉结构的无意扩散，导致意外区域中的麻痹或无力。神经毒素的作用为阻断ACh在神经肌肉接头处的释放。抗胆碱酯酶剂用于通过降解外源性AChE来间接提高ACh。ACh与其受体位点的结合对于保持肌肉传递是必要的。阻断深度是决定抗胆碱酯酶剂在加快自发恢复中的功效的重要因素。为发生恢复或肌肉再激活，必须存在ACh。本文所用的术语“阻断深度”是指突触后受体所占水平。

[0031] 由于肉毒杆菌毒素商业化使用中所引发的麻痹和扩散的特质，将会发生部分化学去神经化和/或自然恢复。因此，阻断的状况或深度将决定恢复的速度。本发明人已发现外周性作用的抗胆碱酯酶剂可用作加快恢复时间的神经毒素挽救剂。发明人已发现抗胆碱酯酶剂的给药时机、抗胆碱酯酶剂浓度以及给药周期是挽救治疗功效中的重要元素。

[0032] 因此，在一个方面，本公开提供了通过对无反应肌肉局部施用有效剂量的包含抗

胆碱酯酶剂的组合物来恢复神经肌肉传递的方法。在某些实施方式中，无反应肌肉先前已经暴露于神经毒素。在某些实施方式中，无反应肌肉先前已暴露于肉毒杆菌毒素。

[0033] 在另一方面，本公开提供了治疗神经毒素引发的肌肉麻痹或肌无力的方法，所述方法包括对患者局部施用包含抗胆碱酯酶剂的组合物。在某些实施方式中，神经毒素是肉毒杆菌毒素。

[0034] 肉毒杆菌毒素是由肉毒杆菌及相关物种产生的神经毒性蛋白。肉毒杆菌菌株产生七种不同的神经毒素，其被指定为A-G型。所有七种类型具有相似的结构和分子量，由通过二硫键接合的重(H)链和轻(L)链组成，并且其全部通过阻断乙酰胆碱的释放而干涉神经传递。因此，在一个实施方式中，本公开的肉毒杆菌毒素包括A型、B型、C型、D型、E型、F型和G型中的一种或多种。在一个实施方式中，本公开的肉毒杆菌毒素包括A型、B型、E型和F型中的一种或多种。在一个实施方式中，本公开的肉毒杆菌毒素包括A型和B型中的一种或多种。在一个实施方式中，本公开的肉毒杆菌毒素是A型肉毒杆菌毒素。

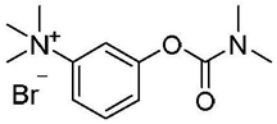
[0035] A型肉毒杆菌毒素被FDA批准用于美容程序，并且可以多种商品名获得，其中一种是保妥适® (BOTOX®)(Allergan,Irvine,CA,USA;本文中称为"保妥适")。类似地，肉毒杆菌毒素也用于治疗逾20种医学状况。最常见的医学状况包括偏头痛、多汗、肌肉痉挛、尿失禁等。毒素从注射部位向外扩散或毒素的过度使用会在这些程序中导致不想要的副作用。例如，在偏头痛的治疗中，颈部疼痛是最常见的副作用，在肉毒杆菌毒素组中约9%的人有此经历，相比而言在安慰剂组则为3%。

[0036] 本公开的方法需要包含抗胆碱酯酶剂的组合物。抗胆碱酯酶剂(即，胆碱酯酶抑制剂)分为两类，有机磷化合物，其是不可逆的；以及氨基甲酸盐，其是可逆的。前者通常具有较高毒性，较长作用时间，并且通常与中枢神经系统(CNS)毒性相关。已经发现了可逆的抗胆碱酯酶剂对多种适应症的医学用途。例如，一些可逆抗胆碱酯酶剂用于治疗阿尔茨海默病，因为这些可越过血脑屏障到达CNS。

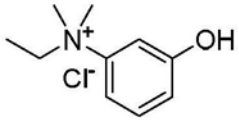
[0037] 在一些实施方式中，本公开的抗胆碱酯酶剂是可逆抗胆碱酯酶剂。在一些实施方式中，本公开的抗胆碱酯酶剂是具有选自以下的一个或多个基团的可逆抗胆碱酯酶剂：氨基甲酸盐、叔铵和季铵。

[0038] 在一些实施方式中，抗胆碱酯酶剂选自以下中的一种或多种：毒扁豆碱、新斯的明、安贝氯铵、吡啶斯的明、安贝氯铵、地美溴铵、利斯的明、加兰他敏、多奈哌齐、塔克林、7-甲氧基塔克林、腾喜龙、石杉碱A、拉多替吉及其任何衍生物和组合。

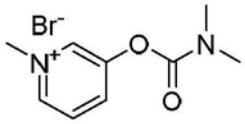
[0039] 在一些实施方式中，本公开的抗胆碱酯酶剂选自以下中的一种或多种：



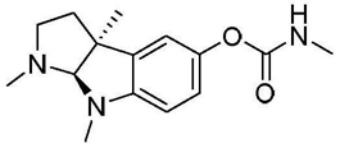
新斯的明，



腾喜龙，

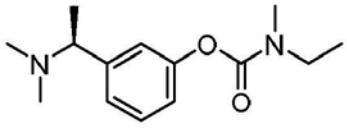


吡啶斯的明，

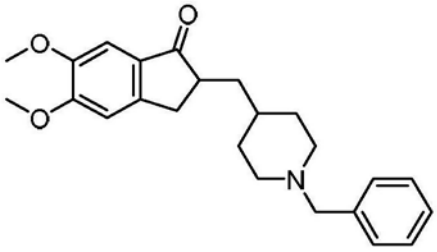


毒扁豆碱，

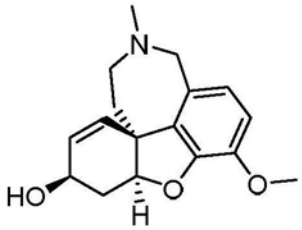
[0040]



利斯的明，



多奈哌齐，



加兰他敏，

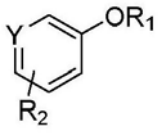
[0041] 及其组合。

[0042] 在本公开的一些实施方式中，抗胆碱酯酶剂是吡啶斯的明、新斯的明、腾喜龙或其组合。

[0043] 在本公开的一些实施方式中，抗胆碱酯酶剂是吡啶斯的明。吡啶斯的明不是脂溶性的，因此是外周性作用的。这一性质使其理想地用于肌肉相关的状况中。吡啶斯的明与新斯的明相比也更安全，因为其具有较低的心动过缓和心律失常发生率。

[0044] 在本公开的一些实施方式中，抗胆碱酯酶剂是式(I)的化合物：

[0045]



(I)

[0046] 或其药学可接受盐，其中

[0047] Y是CR^3或$N^+X^-R^4$，其中X是卤素；

[0048] R_1选自氢、C_1-C_6烷基、-CO(OH)、-CO(C_1-C_6烷氧基)、-CO(NH_2)、-CONH(C_1-C_6烷基)和-

CON(C_1-C_6烷基)$_2$；

[0049] R_2是氢，或者R_2和R_3与其所连接的原子共同形成任选取代的杂环；

[0050] R_3选自C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基、羟基C_1-C_6烷基、氨基C_1-C_6烷基、(C_1-C_6烷基氨基)C_1-C_6烷基、(二-C_1-C_6烷基氨基)-C_1-C_6烷基、C_1-C_6烷氧基-C_1-C_6烷基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)、-N(C_1-C_6烷基)$_2$和-N^+(C_1-C_6烷基)$_3X^-$；和

[0051] R_4选自C_1-C_6烷基、羟基C_1-C_6烷基或C_1-C_6烷氧基-C_1-C_6烷基。

[0052] 在一些实施方式中，式(I)化合物为其中Y是C。在一些实施方式中，式(I)化合物为其中Y是或N^+X^-，或Y是N^+Br^-或N^+Cl^-，或Y是N^+Br^-。

[0053] 在一些实施方式中，根据前述实施方式中任一个的式(I)化合物为其中R_1选自氢、C_1-C_6烷基、-CO(NH_2)、-CONH(C_1-C_6烷基)和-CON(C_1-C_6烷基)$_2$。在一些实施方式中，式(I)化合物为其中R_1选自氢、-CO(NH_2)、-CONH(C_1-C_6烷基)和-CON(C_1-C_6烷基)$_2$。在一些实施方式中，式(I)化合物为其中R_1是氢。在一些实施方式中，式(I)化合物为其中R_1是-CO(NH_2)、-CONH(C_1-C_6烷基)或-CON(C_1-C_6烷基)$_2$。在一些实施方式中，式(I)化合物为其中R_1是-CON(C_1-C_6烷基)$_2$。

[0054] 在一些实施方式中，根据前述实施方式中任一个的式(I)化合物为其中R_2是氢。在一些实施方式中，根据前述实施方式中任一个的式(I)化合物为其中R_2与R_3和其所连接的原子共同形成任选取代的杂环。在一些实施方式中，杂环任选被以下中的一个或多个所取代：卤素、C_1-C_6烷基、C_1-C_6卤代烷基、C_1-C_6烷氧基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)或-(C_1-C_6烷基)$_2$。在一些实施方式中，杂环是八氢吡咯并[2,3-b]吡咯或吡咯烷，其各自被以下中的一个或多个任选取代：卤素、C_1-C_6烷基、C_1-C_6卤代烷基、C_1-C_6烷氧基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)或-N(C_1-C_6烷基)$_2$。在一些实施方式中，杂环是被以下中的一个或多个任选取代的八氢吡咯并[2,3-b]吡咯：卤素、C_1-C_6烷基、C_1-C_6卤代烷基、C_1-C_6烷氧基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)或-N(C_1-C_6烷基)$_2$。

[0055] 在一些实施方式中，根据前述实施方式中任一个的式(I)化合物为其中R_3选自C_1-C_6烷氧基、-OH、-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)、-N(C_1-C_6烷基)$_2$和-N^+(C_1-C_6烷基)$_3X^-$。在一些实施方式中，R_3选自C_1-C_6烷氧基和-OH。在一些实施方式中，R_3选自-NH_2、-NH(C_1-C_6烷基)、-N(C_1-C_6烷基)$_2$和-N^+(C_1-C_6烷基)$_3X^-$。在一些实施方式中，R_3是-N^+(C_1-C_6烷基)$_3X^-$。在一些实施方式中，R_3是-N^+(C_1-C_6烷基)$_3Br^-$或-N^+(C_1-C_6烷基)$_3Cl^-$。

[0056] 在一个实施方式中，本公开的方法要求组合物的靶向递送。将药物靶向递送到作用部位能够增强药物功效。通过提高进入受折磨组织的局部活性药物浓度，同时使对身体其他区域的暴露最小化，能够降低药物毒性。局部递送避免了肝的首过代谢和胃肠道副作用。此外，能够显著降低总药物剂量，从而减少患者对偏离靶标的全身副作用的暴露。这使得能够更广泛地使用抗胆碱酯酶剂类药物，并且将其用于美容相关领域以及其它非危及生命的状况。在本公开的一个实施方式中，组合物被直接施用到受影响的肌肉。

[0057] 靶向药物递送可通过以下方式实现：使用类似于在肉毒杆菌毒素的施用中所使用的常规技术的肠胃外注射，或者通过被动或主动的透皮递送。被动透皮递送是指用于在无驱动力或穿孔的条件下将活性药物递送穿过皮肤屏障的局部或其他常规的皮肤贴剂或凝胶。在本公开的一个实施方式中，组合物通过肠胃外施用(例如，通过肌内注射)。肠胃外递送(例如，肌内注射)可到无反应肌肉区域(即，显现诸如肌肉麻痹或肌无力的副作用的区

域)或在对肌肉特征有深入了解的医学专业人士所推荐的肌肉结构中。

[0058] 在本公开的一个实施方式中,组合物被透皮施用。在一个实施方式中,组合物以透皮贴剂或透皮凝胶施用。透皮药物递送允许药物经由皮肤表面区域进入下层组织。考虑到程序的最高发生率将涉及面部区域,任何贴剂或局部制剂应当在有限时间内保持就位,以允许患者重新进行正常的日常活动。一旦药物已进入皮下空间和靶标组织或肌肉中,希望移除贴剂并移除任何阻碍物。常规的贴剂技术是非侵入性的,并且通常不像注射所要求的那样需要由医学专业人士来施用。本领与技术人员将意识到,性能(通过皮肤的药物摄入/传递)主要取决于药物特性,诸如分子尺寸、亲脂性、药物极性和溶解度。如果需要改善药物传递,本领域技术人员将能够选择合适的表面活性剂和/或渗透增强剂。如果需要更快起效,可采用主动透皮技术(例如,微针或其他皮肤穿孔技术以增强递送速率)。主动方法包括,例如,离子导入法、电穿孔、机械干扰(mechanical perturbation)和其他能量相关技术,诸如超声和无针注射。

[0059] 其他靶向递送方法可包括,但不限于,肌内、皮内、皮下或局部递送。

[0060] 考虑到靶向递送的局部化特性,有效剂量的抗胆碱酯酶剂以小剂量递送,即,低于当抗胆碱酯酶剂口服或静脉内用途给药(通常是用于其他治疗适应症给药)时的所述抗胆碱酯酶剂的临床剂量。将口服转为静脉内给药的一般指导方针是对患者给予口服剂量的1/30。由于靶向施用是直接注入组织中,与静脉内施用相比其剂量将低至0.1mg,或者至多为肌肉松弛剂逆转所必需的剂量的1/10。使用惯例用于评价肌肉或神经损害的已知生理学技术可容易地理解有效剂量。肌电图(EMG)测量当肌肉细胞被电激活时该细胞所产生的电势。针状电极向神经放出快速电脉冲,并且测量肌肉或神经收缩所花费的时间。收缩的速度被报告为传导速度。传导速度可在逆转剂注射之前或之后测量。预期的传导速度的增加将是剂量反应效率的量度。

[0061] 在某些实施方式中,小剂量是当抗胆碱酯酶剂口服或静脉内用途给药(通常是用于其他治疗适应症给药)时的所述抗胆碱酯酶剂的临床剂量约4/5至约1/50。在一些实施方式中,小剂量是口服或静脉内临床剂量的约1/5至约1/50,或口服或静脉内临床剂量的约1/5至约1/20或约1/5至约1/10或约1/10至约1/50或约1/10至约1/50或约1/10。

[0062] 在本公开的一些实施方式中,抗胆碱酯酶剂以约0.05-0.5mg/kg的剂量施用,或者以约0.15-0.25mg/kg的剂量施用,或者以约0.2mg/kg的剂量施用。正如关于为肉毒杆菌毒素注射所提供的给药指导方针的领域中所知,抗胆碱酯酶剂的具体剂量可根据以下因素针对个体进行调整:所涉及肌肉的大小、数量和位置,以诸如以下的方法作为反应指示:针状肌电图引导或者神经刺激。例如,在手掌多汗的治疗中,可根据手掌的大小(例如,cm^2)来调整剂量。本领域技术人员将会意识到,可根据以下因素使剂量更高或更低:抗胆碱酯酶剂的活性、抗胆碱酯酶剂的生物可利用度、其代谢动力学和其他药代动力学性质、施用方式和多种其他因素。本领域技术人员还将意识到,抗胆碱酯酶剂将以如下方式给药:其不会渗入或扩散入全身循环以导致不想要的副作用。

[0063] 在本公开的一些实施方式中,抗胆碱酯酶剂可在神经毒素(例如,肉毒杆菌毒素)之后立即施用。例如,抗胆碱酯酶剂可在神经毒素之后至少1分钟或至少2分钟或至少5分钟或至少10分钟或至少30分钟施用。在本公开的一些实施方式中,抗胆碱酯酶剂可在神经毒素(例如,肉毒杆菌毒素)之后的一定时间施用。例如,抗胆碱酯酶剂可在神经毒素之后至少

1小时或至少6小时或至少24小时或至少2日或至少3日或至少4日或至少5日或至少6日或至少7日施用。

[0064] 对于用于解决因肉毒杆菌毒素所导致的不想要的副作用并且缺少特定监控的抗胆碱酯酶剂的应用中，重点是药物在合适窗口期间可用。在一个实施方式中，当存在ACh时，药物可用。因此，完全阻断的存在将延迟反应。为测定是否存在ACh，患者可以通过例如肌电图(EMG)或其他测试监控。合适的治疗窗口可通过使用持续释放的组合物来访问。合适的治疗窗口可通过使用本公开组合物的数次施用来访问。在一个实施方式中，本公开的组合物可一次性施用(即，在单一剂量中)。在一个实施方式中，本公开的组合物可两次或三次或四次或更多次施用。

[0065] 抗胆碱酯酶剂将在医学从业者或患者已明确知悉神经毒素的效果之后施用。在一些情况中，可耗费7日来达到神经毒素的完全效果。抗胆碱酯酶剂可在不想要的副作用的证据之后的任何时间使用。

[0066] 在本公开的一个实施方式中，组合物是持续释放组合物。持续释放制剂将确保当乙酰胆碱变得可用时药物可发挥作用。持续释放组合物应当避免多次注射本公开的组合物的需要。其还将降低护理成本同时提高最大功效以及有限的患者暴露和更少的副作用。在某些实施方式中，持续释放制剂在以日计的一段时间内释放抗胆碱酯酶：例如，在1日或2日或3日或4日或5日或6日或7日或10日或14日或21日或30日的一段时间，或介于1日至14日之内的一段时间或介于1日至7日之内的一段时间或介于3日至7日之内的一段时间或介于1日至5日之内的一段时间或介于5日至7日之内的一段时间，或在以小时计的一段时间内：例如，至多约3小时或至多约6小时或至多约12小时或至多约24小时，或者介于约3小时至约24小时之内或介于约3小时至约18小时之内或介于约3小时至约12小时之内或介于约3小时至约6小时之内或介于约6小时至约24小时之内或介于约6小时至约18小时之内或介于约6小时至约12小时之内或介于约12小时至约24小时之内或介于约18小时和约24小时之内。

[0067] 合适的持续释放制剂对于本领域技术人员是已知的，并且本公开的组合物可根据所需药物载荷、所需药物递送曲线和/或所需释放速率/药代动力学而以多种方式调配。

[0068] 本公开的持续释放组合物可为Rhee等人所公开的任何一种制剂(“Sustained-Release Injectable Drug Delivery,”(2010)Pharmaceutical Technology, Vol.2010Supplement,Issue 6,pp.1-7source URL:http://www.pharmtech.com/sustained-release-injectable-drug-delivery)，该文献通过引用以其整体并入本文。

[0069] 本公开的持续释放组合物可通过美国专利公开第2012/0316108号中公开的方法来制备，该申请通过引用以其整体并入本文。这些制剂是需要使用磷脂(20％-80％)的单相凝胶制剂，优选以较低范围的磷脂使用以允许使用较细针头的注射器。制剂可包括来自用于肠胃外产品所实际使用的蛋或大豆的药品级卵磷脂或者确定用于可注射药物制剂中的油。在调配磷脂凝胶的第一步中一次分散液(primary dispersion)可包括乳液或悬浮液，或者如果使用油则可被称为乳液。因此，在一个实施方式中，本公开的组合物是单相凝胶组合物，其还包含20-80wt％的磷脂和0.1-65wt％的水。在一个实施方式中，本公开的组合物(例如，单相凝胶组合物)可通过具有约30G(gauge)至约33G的针挤出。持续释放单相凝胶制剂可通过包括以下的方法制备：(a)将组分混合以形成包含一种或多种磷脂和过量水的一次分散液；(b)将一次分散液均化以形成平均粒径小于约200nm直径的纳米分散液；(c)将纳

米分散液通过0.2m或0.45微米过滤器;和(d)去除过量水以获得凝胶。在一些实施方式中,如果制剂是根据可注射药物的标准实践进行热灭菌的,则可取消步骤c。

[0070] 包含抗胆碱酯酶剂的组合物还可包括合适的载体、赋形剂或稀释剂。载体、赋形剂或稀释剂的精确特质将取决于组合物的所需性能,并且范围可从适合或可接受用于兽医学用途到合适或可接受用于人类用途。

[0071] 包含抗胆碱酯酶剂的组合物可通过常规的混合、溶解、粒化、制糖衣、磨粉、乳化、胶囊化、封装截留(entrapping)或冻干工艺制备。组合物可以常规方式使用一种或多种有利于将化合物加工成可药用制剂的生理学可接受的载体、稀释剂、赋形剂或助剂调配。

[0072] 抗胆碱酯酶剂可以其本身或作为水合物、溶剂合物、N-氧化物或药学可接受盐(如先前所述)的形式调配为药物组合物。通常,这样的盐比相应的游离酸和碱更易溶于水溶液中,但是可也形成与相应的游离酸和碱相比具有更低溶解度的盐。

[0073] 如果需要,本公开的组合物可作为即用型单次使用的递送制剂(包括设计用于注射施用的那些)而存在。这将避免交叉污染和浪费的问题。根据治疗中心的活跃程度,挽救产品的使用频率将有可能不必使用多次使用的无菌容器系统,诸如药水瓶(vials)。可使用的注射制剂包括活性化合物在水性或油性载体中的无菌悬浮液、溶液或乳液。组合物还可包含调配剂,诸如,悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。注射用制剂可以单位剂量形式存在,例如,在安瓶中或者多剂量容器中,并且可包含添加的防腐剂。或者可选地,可注射制剂可以粉末形式提供,以便在使用前用合适的载体重建,包括但不限于无菌无热源的水、缓冲液、葡萄糖溶液等。为此,抗胆碱酯酶剂可通过任何本领域已知的技术干燥(诸如,冻干),并在使用前重建。

[0074] 可注射制剂可使用多种方法展开(在商业用途中或者开发过程中)。这些可包括但不限于油基注射液、可注射药物悬浮液、可注射微球或原位体系、赋形剂和随时间溶解的用于药物储库的聚合物。技术的选择将取决于以下主要因素:基质中的药物载荷,所需的药物递送曲线,释放速率/药代动力学(治疗窗口)。油基可注射溶液和可注射药物悬浮液将释放控制在数日到数周,而聚合物基微球和原位凝胶或药物储库据报道可持续数月。理想的最终制剂将受限于需要注射或以其他方式施用给患者的总体积。

[0075] 如果需要,本公开的组合物可存在于药盒中。药盒可配有施用说明。

[0076] 如果需要,本公开的组合物可存在于可包含一个或多个含有化合物的单位计量形式的包装或分配器件中。所述包装可例如包括金属或塑料箔,诸如,泡罩包装。包装或分配器件可配有施用说明。

[0077] 实施例

[0078] 动物模型和方法

[0079] 为证明抗胆碱酯酶剂在促进肉毒杆菌毒素注射后自发恢复方面的功效,采用Moon等人所概述的大鼠模型(Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery(2015)37:46)。在这种情况中,将肉毒杆菌毒素注射入大鼠的咬肌并监控即将发生的食物摄入变化。实验的目的是使用肉毒杆菌神经毒素引发大鼠颚部肌肉麻痹。预计这将会对食物摄入产生不利影响并且随后测试抗胆碱酯酶剂对比注射促进恢复过程的能力。

[0080] 测试材料是被批准用于注射的产品。将肉毒杆菌毒素保妥适®(Allergan,Irvine,CA,USA)使用注射用盐水重建为所需剂量。实验中所用的保妥适的剂量为5个100μ

L/单位。吡啶斯的明Regonol®(SandozInc.,Princeton,NJ,USA)以即用型注射溶液使用(5mg/ml)。

[0081] 使通常重量介于375至400g之间的SD大鼠经受保妥适对照物或用抗胆碱酯酶剂吡啶斯的明治疗。将每组大鼠(通常为3-5只)的重量和食物摄入监控约1周的时间,作为基线测量。随后,每组接受进入到咬肌的保妥适注射。经总计2-4周跟踪大鼠重量和食物摄入。

[0082] 预计引发颚部肌肉麻痹将会导致食物摄入减少和可能的重量损失,随后是随着保妥适效果随时间的减退而恢复。在保妥适施用之后,一些组大鼠接受了进入到咬肌中的逆转剂注射。治疗组在剂量、给药方案和逆转剂施用频率方面有所不同。每只动物均在注射前使用异氟烷简单麻醉并逐日称重。大鼠用粒状鼠饲料喂养。这与Moon实验的不同之处在于采用粉状饲料。考虑了粒状饲料将是肌肉萎缩和咀嚼能力的更有代表性的量度。

[0083] 将保妥适(5个100μl/单位)注射入大鼠的咬肌中。在实验开始时注射相当体积的盐水以使注射程序和剂量递送标准化。尽管测试了低于5单位/侧的保妥适(0.1-2.5单位),这些较低剂量与基线相比不会影响食物摄入,因此暗示了实验模型不显示剂量反应。怀疑动物模型的局限性对恢复结果有削弱作用。

[0084] 为限制肌肉麻痹和食物摄入严重受影响的时间内动物脱水的可能性,用无菌乳酸化林格氏溶液对大鼠进行尾静脉注射。

[0085] 肉毒杆菌毒素对照物

[0086] 如图2中所示,仅使用保妥适(即,不用抗胆碱酯酶剂治疗),大鼠甚至在37日之后仍不能达到100%恢复。这与产品标签中制造商所报告的作用时间相一致,即神经毒素的作用可在患者中持续90+日。然而,这与Moon等人所显示的结果不符,后者显示在仅10日之后自发地发生了接近完全恢复。结果差异的原因可能是因为所用的神经毒素的不同生物效价。保妥适没有在材料和方法中被特别说明。不同A型肉毒杆菌毒素制造商之间的效价不具可比性,并且这在文献中和在不同制造商的产品标签中被清楚表明。

[0087] 结果:施用时机

[0088] 如前文中所解释的,自发恢复/逆转的加快依赖于神经肌肉接合处乙酰胆碱的存在。抗胆碱酯酶用于抑制胆碱酯酶在将乙酰胆碱破坏为其基础单元胆碱和乙酸中的作用。乙酰胆碱通常被摄入突触中并通过胆碱再加工而再生。

[0089] 所进行的实验证明了早期施用抗胆碱酯酶剂是无效的。合适的时机,即,与保妥适对照物相比引起增强的恢复反应的时机在我们的动物模型中发生在约第6日之后(即,在肉毒杆菌毒素注射之后6日时)。由于缺乏AChE的反应,并且不受任何理论所限,有可能乙酰胆碱直到此时才是可用的。预计如果神经毒素的剂量足够低以致持续肌肉松弛和不会完全固定,则将看到更立即的反应。例如,在肉毒杆菌毒素副作用的情况下将期待更快时间的反应。副作用通常为毒素效果扩散或进入靶标区域的注射技术不佳的结果。有报道称在人类使用中副作用会耗费数周至数月来解决。同时,保妥适化妆品的产品插页称,剂量设计为实现部分化学去神经化。在副作用源于人类中使用肉毒杆菌毒素治疗的情况中,反应时间可以是立即的。

[0090] 结果:自发恢复的增强

[0091] 如图3中所示,在第2、7、9、11和14日对大鼠给予Regonol®(溴化吡啶斯的明)注射液。Regonol®的剂量为0.5mg/侧,在指定日将100μl注射入大鼠的咬肌。食物摄入的平

均相对提高为26.3%，基于注射后6日期满后收集的数据。

[0092] 如图4中所示，用Regonol®治疗的动物通过约26日显示了食物摄取的完全恢复，而对照动物在第37日时尚未恢复。同样要注意的是在最后治疗日之后的第14日恢复仍然继续。

[0093] 结果:终板中毒

[0094] 在可从抗胆碱酯酶剂的给药观察到的毒蕈碱样副作用中有恶心、呕吐和腹泻。在SD大鼠中进行的对吡啶斯的明的毒性研究中，吡啶斯的明引发的毒性迹象包括眼黏分泌物、鼻涕、活动减退、虚脱、共济失调、腹泻、驼背姿势、外观消瘦和死亡(Battell，Preclinical Toxicology of New Drugs,Report 8740-86-2,April 4,1986,J.G Gage Principle Investigator)。因此，监控本实施例中大鼠的不良作用迹象。通过本公开方法治疗大鼠显示没有副作用。

[0095] 重要的是实现有效剂量的抗胆碱酯酶剂而不会影响终板末梢的中毒。没有报告过肌内注射入肌肉组织中的剂量。如先前所讨论的，施用时阻断的深度将影响恢复效率。作为在麻醉结束时静脉内使用胆碱酯酶抑制以逆转神经肌肉阻滞的平行方案，在自发恢复开始之前施用没有优势。此外，胆碱酯酶抑制剂在较高剂量时达到上限。在本动物模型中，证明了给予更多抗胆碱酯酶剂不会引发改善反应。不受限于具体理论，可假定较高剂量能导致终板处较高浓度的乙酰胆碱，因为外源酶不能用于消除过量的乙酰胆碱。积累可导致终板中毒，导致去极化的恒定状态。这用作其自身的去极化阻断形式。

[0096] 由于优选的抗胆碱酯酶剂的作用时间有限，当外源胆碱酯酶水平被重建时，将随时间发生恢复。

[0097] 图5显示了用较高剂量方案治疗的动物经历了食物摄入恢复的落后。假设这种反应落后是由于终板末梢的临时性中毒。与仅使用保妥适的对照组(其在6日后开始自发恢复)相比，直到保妥适固定后10+日才发生恢复。本实验中的较高剂量被定义为从第3日直到第14日开始每日两次注射0.25mg/侧的剂量。

[0098] 结论

[0099] 在人类受试者中，预计部分化学去神经化状态的挽救或逆转显示更快的反应。如先前所解释的，天然乙酰胆碱的存在是建立神经传导的前提。副作用的来临被认为是毒素扩散的结果，后者导致脱靶效应。这最有可能是因为与完全肌肉固定或麻痹相比的脱靶的肌肉松弛(部分去神经化)。根据鼠食物摄入鼠类模型(其显示对于神经毒素引发的麻痹的剂量反应曲线的较低敏感性)，本领域技术人员预期在人类模型中的结果会更显著。这是因为神经毒素在人类中的美容和医学用途中的实际状况不是预期达到完全固定的状态，尤其是在副作用的表现中。预期神经毒素的靶标剂量引发肌肉松弛的状态。与完全去神经化相比，这将导致部分去神经化的存在。同时，人类模型不需要咀嚼。在鼠食物摄入模型中，咀嚼是复杂过程，并且可被驱动运动机能中的多种因素影响。因此，不会达到部分化学去神经化的状态。这一限制导致了反应的延迟发作，因为直到神经抽芽开始乙酰胆碱才会可用。

[0100] 应理解本文所述的实施例和实施方式仅用于说明目的，并且本领域技术人员可建议对其进行多种修改或变化，并且这些多种修改或变化被包含在本申请的精神和范围以及所附权利要求的范围中。本文中引用的所有公开出版物、专利和专利申请将通过引用在此并入本文用于所有目的。

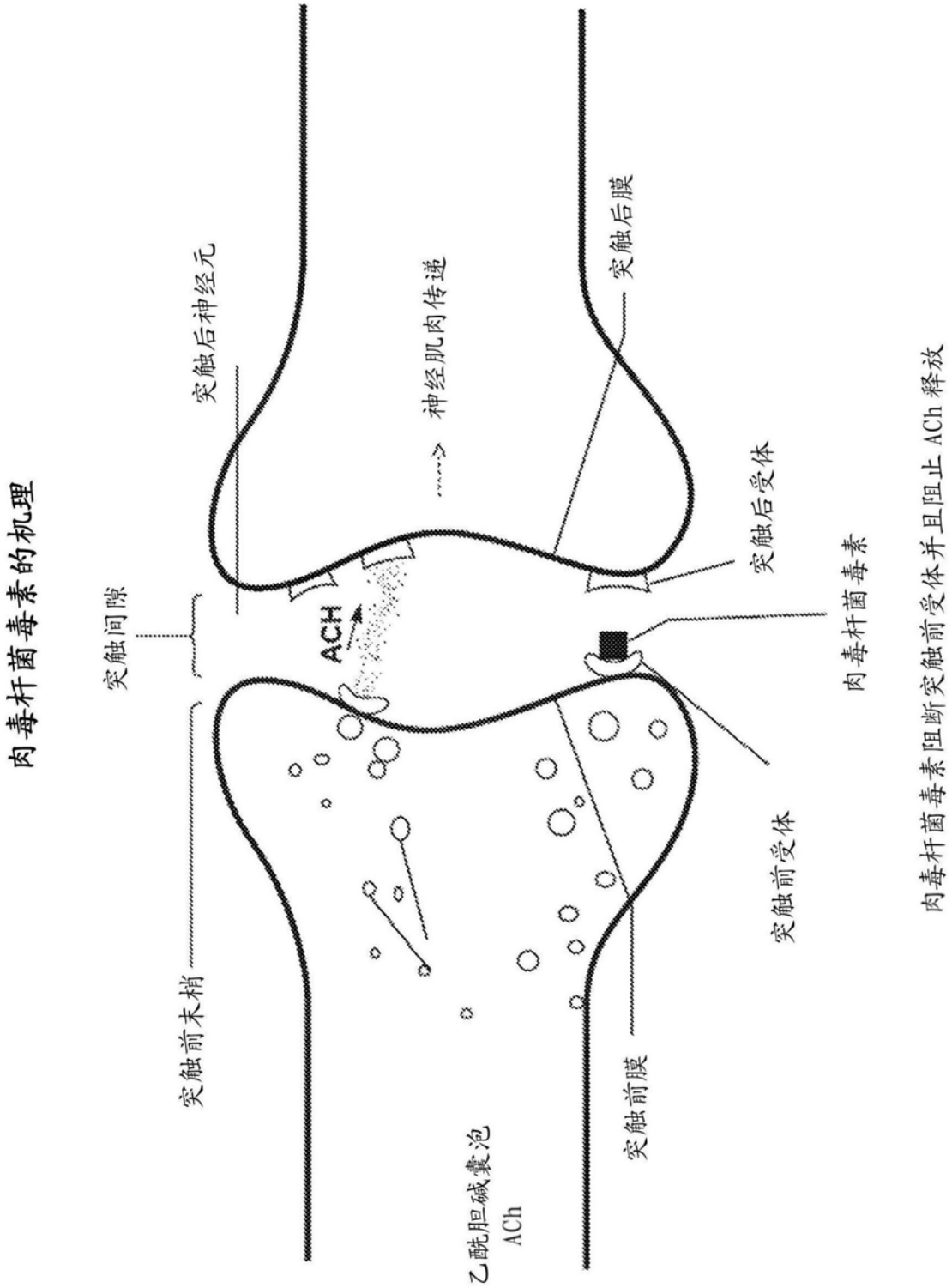

肉毒杆菌毒素的机理
突触间隙
突触后神经元
神经肌肉传递
突触后膜
ACH
突触后受体
肉毒杆菌毒素
突触前末梢
乙酰胆碱囊泡
ACh
突触前膜
突触前受体
肉毒杆菌毒素阻断突触前受体并且阻止 ACh 释放

图1

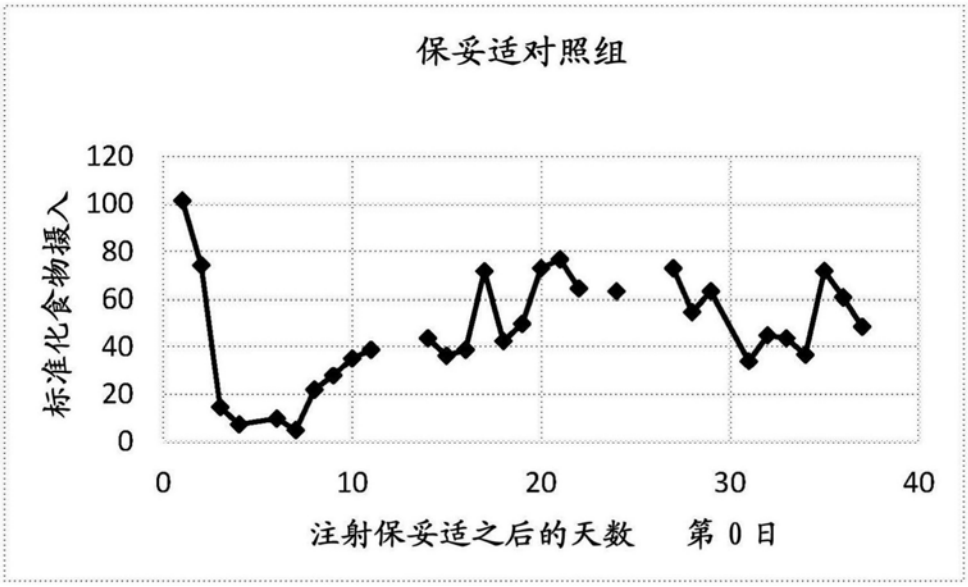

保妥适对照组
标准化食物摄入
120
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
注射保妥适之后的天数 第 0 日

图2

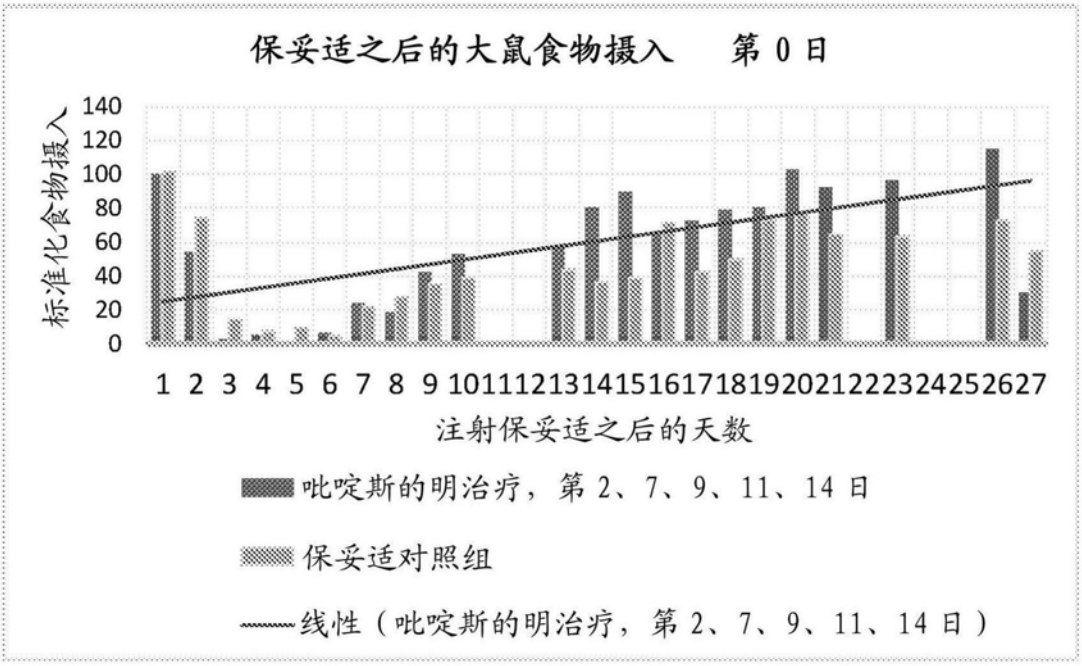

保妥适之后的大鼠食物摄入 第 0 日
标准化食物摄入
140
120
100
80
60
40
20
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27
注射保妥适之后的天数
吡啶斯的明治疗，第 2、7、9、11、14 日
保妥适对照组
线性（吡啶斯的明治疗，第 2、7、9、11、14 日）

图3

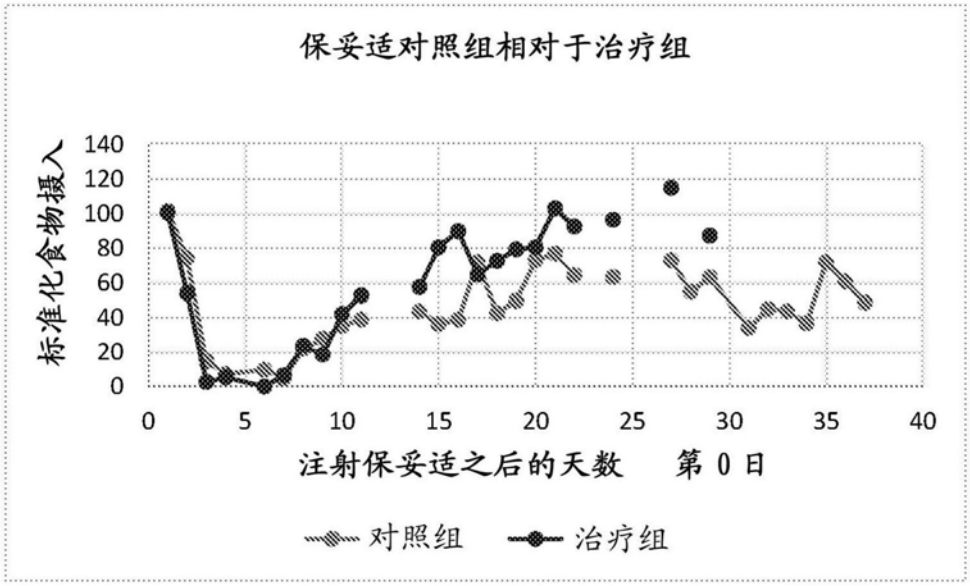

保妥适对照组相对于治疗组
标准化食物摄入
140
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
注射保妥适之后的天数 第 0 日
对照组
治疗组

图4

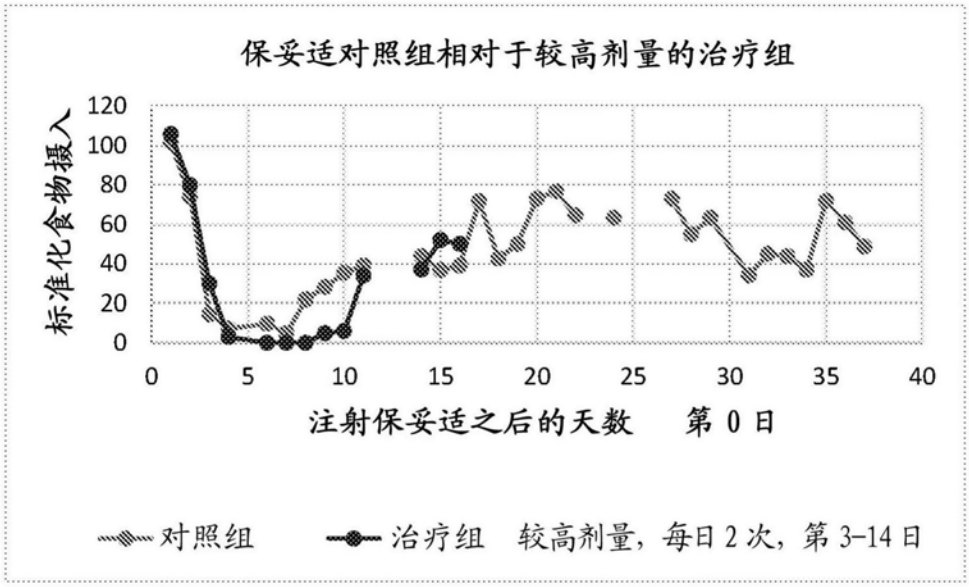

保妥适对照组相对于较高剂量的治疗组
标准化食物摄入
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
注射保妥适之后的天数 第 0 日
对照组
治疗组 较高剂量，每日 2 次，第 3-14 日

图5