(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 109803672 A
(43)申请公布日 2019.05.24

(21)申请号 201780061279.6

(22)申请日 2017.09.13

(30)优先权数据
62/394,009 2016.09.13 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.04.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/051394 2017.09.13

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/053021 EN 2018.03.22

(71)申请人 阿勒根公司
地址 美国加利福尼亚

(72)发明人 M·阿比阿德 B·达尼 E·沙拉耶夫

(74)专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285
代理人 陈玉平 张广育

(51)Int.Cl.
A61K 38/48(2006.01)
A61K 47/10(2006.01)
A61K 47/18(2006.01)
A61K 47/20(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61K 47/02(2006.01)

权利要求书2页 说明书23页

(54)发明名称

稳定的非蛋白质梭菌毒素组合物

(57)摘要

本发明描述了稳定梭菌毒素活性成分的药物组合物。所述组合物可为液体或固体组合物，并且包含表面活性剂和抗氧化剂。在一些实施方案中，所述组合物包含：表面活性剂，所述表面活性剂选自泊洛沙姆和聚山梨酸酯；抗氧化剂，所述抗氧化剂选自甲硫氨酸、N-乙酰半胱氨酸、乙二胺四乙酸以及它们的组合；以及张力剂和/或冻干保护剂，所述张力剂和/或冻干保护剂选自例如海藻糖和蔗糖。

CN 109803672 A

1.一种药物组合物,包含:

(i)梭菌毒素活性成分;

(ii)张力剂;

(iii)泊洛沙姆和/或聚山梨酸酯;以及

(iv)抗氧化剂。

2.根据权利要求1所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素。

3.根据权利要求1或权利要求2所述的组合物,包含海藻糖。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的组合物,包含泊洛沙姆188和/或聚山梨酸酯20。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的组合物,包含甲硫氨酸和N-乙酰-半胱氨酸中的一者或多者。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、泊洛沙姆188或聚山梨酸酯20中的一者以及甲硫氨酸或N-乙酰-半胱氨酸中的一者。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、泊洛沙姆188和甲硫氨酸。

8.根据权利要求7所述的组合物,其中所述海藻糖、泊洛沙姆188和甲硫氨酸的相对重量(%,w/w)在以下范围内:

海藻糖	1至10
泊洛沙姆188	0.5至5
甲硫氨酸	0.1至0.3。

9.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、聚山梨酸酯20和甲硫氨酸。

10.根据权利要求9所述的组合物,其中所述海藻糖、聚山梨酸酯20和甲硫氨酸的相对重量(%,w/w)在以下范围内:

海藻糖	1至10
聚山梨酸酯20	0.02至0.06
甲硫氨酸	0.1至0.3。

11.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、泊洛沙姆188和N-乙酰-半胱氨酸。

12.根据权利要求11所述的组合物,其中所述海藻糖、泊洛沙姆188和N-乙酰-半胱氨酸的相对重量(%,w/w)在以下范围内:

海藻糖	1至10
泊洛沙姆188	0.5至5
N-乙酰-半胱氨酸	0.01至0.5。

13.根据权利要求1至6中任一项所述的组合物,包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、聚山梨酸酯20和N-乙酰-半胱氨酸。

14.根据权利要求13所述的组合物,其中所述海藻糖、聚山梨酸酯20和N-乙酰-半胱氨酸的相对重量(%,w/w)在以下范围内:

海藻糖	1至10
聚山梨酸酯20	0.02至0.06

N-乙酰-半胱氨酸 0.01至0.5。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的组合物,包含组氨酸。

16.根据权利要求1至15中任一项所述的组合物,不包含动物源蛋白质。

17.根据权利要求1至4中任一项所述的组合物;包含乙二胺四乙酸钠盐(EDTA)或EDTA类似物。

18.根据权利要求5和6中任一项所述的组合物,还包含乙二胺四乙酸钠盐(EDTA)或EDTA类似物。

19.根据权利要求11至14中任一项所述的组合物,还包含乙二胺四乙酸钠盐(EDTA)或EDTA类似物。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的组合物,其中所述EDTA的相对重量(%,w/w)在约0.01至0.10的范围内。

21.根据权利要求1至20中任一项所述的组合物,其中所述组合物为固体制剂。

22.根据权利要求12、14、19和20中任一项所述的组合物,其中所述组合物为固体制剂,并且所述N-乙酰-半胱氨酸的相对重量(%,w/w)为0.01至0.05。

23.根据权利要求1至20中任一项所述的组合物,其中所述组合物为液体制剂并且具有5至7的pH。

24.根据权利要求11至14、19和20中任一项所述的组合物,其中所述组合物为液体制剂并且具有5至7的pH,其中所述N-乙酰-半胱氨酸的相对重量为0.1至0.5。

稳定的非蛋白质梭菌毒素组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及包含梭菌毒素活性成分和一种或多种非蛋白质赋形剂的固体和液体药物组合物。

背景技术

[0002] 药物组合物是含有至少一种活性成分(例如梭菌毒素)以及例如一种或多种赋形剂、缓冲剂、载体、稳定剂、防腐剂和/或膨化剂的制剂,并且适于施用给患者以实现期望的诊断结果或治疗效果。本文公开的药物组合物具有诊断、治疗和/或研究用途。

[0003] 为了储存稳定性和操作的便利性,可以将药物组合物配制成冻干(即冷冻干燥)或真空干燥的粉末,其可在施用给患者之前用合适的流体(诸如盐水或水)进行重构。作为另外一种选择,可将药物组合物配制成水溶液或悬浮液。药物组合物可含有蛋白质活性成分。遗憾的是,蛋白质活性成分可能非常难以稳定(即保持在生物活性丧失最小化的状态),从而导致在使用之前的药物组合物配制、重构(如果需要)和储存过程中蛋白质的损失和/或蛋白质活性的丧失。稳定性问题可由蛋白质活性成分的表面吸附、物理不稳定性(例如变性或聚集)或化学不稳定性(例如交联、去酰胺、异构化、氧化、酸性或碱性物质的形成、美拉德反应和片段化)而产生。为了防止这种不稳定性,已经使用各种基于蛋白质的赋形剂(诸如白蛋白和明胶)来稳定药物组合物中存在的蛋白质活性成分。

[0004] 遗憾的是,尽管已知其稳定作用,但在药物组合物中使用诸如白蛋白或明胶的蛋白质赋形剂存在明显的缺点。例如,白蛋白和明胶很昂贵并且越来越难以获得。此外,当施用给患者时,诸如白蛋白和明胶的血液产品或动物衍生产品可能使患者面临接收血源性病原体或感染剂的潜在风险。因此,已知存在这样的可能性:药物组合物中动物源蛋白质赋形剂的存在可导致感染性元素无意中掺入到药物组合物中。例如,据报道,使用人血清白蛋白可能将朊病毒转移到药物组合物中。因此,希望找到合适的可用于稳定药物组合物中存在的蛋白质活性成分的非蛋白质赋形剂,例如稳定剂、冷冻保护剂和冻干保护剂。

[0005] 梭菌毒素的独特特征进一步限制和阻碍了用于包含梭菌毒素活性成分的药物组合物的合适的非蛋白质赋形剂的选择。例如,梭菌毒素是平均分子量为约150kDa的大蛋白质,并且进一步与非毒素相关蛋白质复合,其将大小增加至约300-900kDa。梭菌毒素复合物的大小使其比较小的、较不复杂的蛋白质更脆弱和不稳定,因此如果要保持梭菌毒素的稳定性,则制剂的配混和操作更困难。因此,非蛋白质赋形剂(例如稳定剂、冷冻保护剂和冻干保护剂)的使用必须能够以不使毒素变性、片段化或以其它方式灭活毒素或不引起毒素复合物中存在的非毒素相关蛋白离解的方式与梭菌毒素活性成分相互作用。

[0006] 与梭菌毒素活性成分相关的另一个问题是在配制过程的所有步骤中必需的特殊安全性、精确性和准确性。因此,非蛋白质赋形剂本身不应具有毒性或难以处理,以免加剧已经极其严格的要求。

[0007] 与梭菌毒素活性成分相关的另一个难题是药用组合物中使用的梭菌毒素含量低得令人难以置信。与通常的酶一样,梭菌毒素的生物活性至少部分地取决于其三维构象。因

此，通过加热、各种化学品、表面拉伸和表面干燥来使梭菌毒素毒性消失。另外，已知将通过已知的培养、发酵和纯化方法获得的梭菌毒素复合物稀释至药物组合物中所使用的低得多的浓度会导致毒素的快速失活。用于药物组合物的极低量的梭菌毒素活性成分使得该活性成分非常易于吸附到例如实验室玻璃器具、容器的表面、药物组合物重构的小瓶以及用于注射药物组合物的注射器的内表面。梭菌毒素活性成分对表面的这种吸附可导致活性成分的损失和剩余的梭菌毒素活性成分的变性，这两者均降低了药物组合物中存在的活性成分的总活性。因此，使用非蛋白质赋形剂(例如稳定剂、冷冻保护剂和冻干保护剂)必须能够充当表面阻滞剂，以防止梭菌毒素活性成分吸附至表面。

[0008] 与梭菌毒素活性成分相关的另一个问题是与复合物形成相关的pH敏感性。例如，已知900kDa的BoNT/A复合物可溶于pH 3.5-6.8的稀水溶液中。然而，在pH高于约7时，特别是当pH升高到pH 8.0以上时，非毒素相关蛋白质从150-kDa神经毒素上解离，导致毒性损失。参见Edward J.Schantz等人，第44-45页，Preparation and characterization of botulinum toxin type A for human treatment，Jankovic，J.等人，Therapy with Botulinum Toxin(Marcel Dekker，Inc.，1994)。由于据信非毒素相关蛋白保持或有助于稳定毒性所依赖的二级和三级结构，因此这些蛋白质的离解导致梭菌毒素活性成分更不稳定。因此，可用于配制包含梭菌毒素活性成分的药物组合物的非-蛋白质赋形剂必须能够在保持梭菌毒素活性成分的活性所必需的pH水平的范围内操作。

[0009] 因此，需要这样一种梭菌毒素药物组合物，其中梭菌毒素活性成分(诸如肉毒杆菌毒素)通过非蛋白质赋形剂稳定。本发明涉及具有一种或多种用于稳定固体或液体药物组合物中存在的梭菌毒素活性成分的非蛋白质赋形剂的固体和液体梭菌毒素药物组合物。

发明内容

[0010] 在一个方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含梭菌毒素活性成分、张度剂、表面活性剂和抗氧化剂。在一些实施方案中，该药物组合物包含肉毒杆菌毒素。在一些实施方案中，该药物组合物包含海藻糖。在一些实施方案中，该药物组合物包含氯化钠。在一些实施方案中，该组合物包含泊洛沙姆和/或聚山梨酸酯。在一些实施方案中，该组合物包含泊洛沙姆188和/或聚山梨酸酯20。在一些实施方案中，该抗氧化剂包含L-甲硫氨酸、N-乙酰-半胱氨酸和/或乙二胺四乙酸钠盐(EDTA)或EDTA类似物。在一些实施方案中，该组合物还包含缓冲剂。在一个实施方案中，该缓冲剂包括组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，该组合物的pH为5至7。在一些实施方案中，该组合物为液体制剂。在一些实施方案中，该组合物为固体制剂。

[0011] 在一个方面，本公开提供了液体药物组合物，其包含梭菌毒素衍生物、海藻糖、泊洛沙姆188或聚山梨酸酯20以及L-甲硫氨酸或N-乙酰半胱氨酸(NAC)。在一些实施方案中，该液体药物组合物包含肉毒杆菌毒素。在一些实施方案中，该液体药物组合物还包含EDTA或EDTA类似物。在一些实施方案中，该液体药物组合物包含组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，该液体药物组合物的pH在5至7的范围内。在一些实施方案中，L-甲硫氨酸的相对重量在约0.1％至约0.3％的范围内。在一些实施方案中，NAC的相对重量在约0.1％至约0.5％的范围内。在一些实施方案中，EDTA的相对重量在约0.01％至约0.05％的范围内。在一些实施方案中，海藻糖的相对重量在约1.0％至约10％的范围内。在一些实施方案中，泊洛沙姆188的

相对重量在约2％至约5％的范围内。在一些实施方案中，聚山梨酸酯20的相对重量在约0.02％至约0.06％的范围内。

[0012] 在另一方面，本公开提供了包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、泊洛沙姆188或聚山梨酸酯20、NAC和EDTA或EDTA类似物的固体药物组合物。在另选的实施方案中，该固体药物组合物包含肉毒杆菌毒素、海藻糖、泊洛沙姆188和L-甲硫氨酸。在一些实施方案中，该固体药物组合物还包含组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，L-甲硫氨酸的相对重量在约0.1％至约0.3％的范围内。在一些实施方案中，NAC的相对重量在约0.01％至约0.05％的范围内。在一些实施方案中，EDTA的相对重量在约0.01％至约0.05％的范围内。在一些实施方案中，海藻糖的相对重量在约1.0％至约10％的范围内。在一些实施方案中，泊洛沙姆188的相对重量在约0.5％至约5％的范围内。在一些实施方案中，聚山梨酸酯20的相对重量在约0.02％至约0.06％的范围内。

具体实施方式

[0013] 本发明的某些组合物提供稳定的液体或固体药物组合物，其包含梭菌毒素衍生物、二糖、表面活性剂和抗氧化剂。

[0014] 某些实施方案还提供了使用根据本发明方面提供的组合物治疗各种疾病、障碍和病症的方法，包括例如抑郁症、头痛(例如，偏头痛、紧张性头痛等)、疼痛、多汗症、肌肉痉挛、颈肌张力障碍、睑痉挛、膀胱过度活动症(神经源性逼尿肌过度活动、特发性膀胱过度活动症)、皮肤病(包括例如皱纹、不规则、凹陷等)。实施方案可包括各种施用技术，包括例如注射(诸如肌内、皮内、皮下注射等)、滴注、静脉内、透皮和局部施用。

[0015] 定义

[0016] 如本文所用，下文列出的词语或术语具有以下定义：

[0017] 如本文所用，“约”或“大约”意指在本领域普通技术人员确定的特定值的可接受误差范围内，其将部分地取决于该值的测量或确定方式(即，测量系统的限制)。例如，对于本领域的每个实践，“约”可表示在1个或多于1个标准偏差内。在本申请和权利要求书中描述了特定值的情况下，除非另有说明，否则术语“约”意指在该特定值的可接受误差范围内。

[0018] “施用”或“施用给”意指将药物组合物给予(即施用给)受试者或另选地受试者接受药物组合物的步骤。本文所公开的药物组合物可通过多种方法局部施用。适当的施用途径可以是例如肌内、皮内、皮下施用、鞘内施用、腹膜内施用、局部(透皮)、滴注和植入(例如，缓释装置，诸如聚合物植入物或微渗透泵)。

[0019] “减轻”意指疼痛、头痛或病症或障碍的任何症状或病因的发生减少。因此，减轻包括一些减少、显著减少、几乎全部减少和全部减少。

[0020] “不含动物蛋白”意指不存在血液衍生、血液合并和其它动物来源的产品或化合物。“动物”意指哺乳动物(诸如人)、鸟类、爬行动物、鱼类、昆虫、蜘蛛或其它动物物种。“动物”不包括微生物，诸如细菌。因此，不含动物蛋白的药物组合物可包括肉毒杆菌神经毒素。例如，“不含动物蛋白”的药物组合物意指基本上不含或实质上不含或完全不含血清来源的白蛋白、明胶和其它动物源蛋白质(诸如免疫球蛋白)的药物组合物。不含动物蛋白质的药物组合物的示例是包含肉毒杆菌毒素(作为活性成分)和合适的多糖作为稳定剂或赋形剂或由其组成的药物组合物。

[0021] “生物活性”描述了药物对生物的有益或不利影响。当药物是复杂的化学混合物时，该活性由物质的活性成分施加，但可以被其它组分修饰。生物活性可通过体内LD_{50}或ED_{50}测定法或通过体外测定法(例如美国专利20100203559和美国专利20100233802中所述的基于细胞的效能测定法)评估为效能或毒性。

[0022] “肉毒杆菌毒素”意指由肉毒梭菌产生的神经毒素，以及由非梭菌菌种重组制备的肉毒杆菌毒素(或其轻链或重链)。如本文所用，短语“肉毒杆菌毒素”涵盖肉毒杆菌毒素血清型A、B、C、D、E、F和G，以及它们的亚型和其任何其它类型的亚型，或在任何情况下上述任何一种的任何重新工程化的蛋白质、类似物、衍生物、同源物、部分、子部分、变体或型式。如本文所用，“肉毒杆菌毒素”还涵盖“经修饰的肉毒杆菌毒素”。本文所用的另外的“肉毒杆菌毒素”还涵盖肉毒杆菌毒素复合物(例如，300、600和900kDa复合物)以及与复合蛋白质无关的肉毒杆菌毒素(150kDa)的神经毒性组分。

[0023] “梭菌毒素”是指由可执行总体细胞机制的梭菌毒素菌株产生的任何毒素，所述机制使梭菌毒素对细胞产生毒性，并且包括梭菌毒素与低或高亲和力梭菌毒素受体的结合、毒素/受体复合物的内化、梭菌毒素轻链易位到细胞质中以及梭菌毒素底物的酶修饰。梭菌毒素的非限制性实例包括肉毒杆菌毒素如BoNT/A、BoNT/B、BoNT/C_1、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、破伤风毒素(TeNT)、巴拉提尼(Baratii)毒素(BNT)和丁酸毒素(BuNT)。不是神经毒素的BoNT/C_2细胞毒素和BoNT/C_3细胞毒素被排除在术语“梭菌毒素”之外。本文所公开的梭菌毒素包括但不限于：天然存在的梭菌毒素变体，例如梭菌毒素同种型和梭菌毒素亚型；非天然存在的梭菌毒素变体，例如保守梭菌毒素变体、非保守的梭菌毒素变体、梭菌毒素嵌合变体和其活性的梭菌毒素片段或它们的任何组合。本文所公开的梭菌毒素还包括梭菌毒素复合物。如本文所用，术语“梭菌毒素复合物”是指包含梭菌毒素和非毒素相关蛋白(NAP)的复合物，例如肉毒杆菌毒素复合物、破伤风毒素复合物、巴拉提尼毒素复合物和丁酸毒素复合物。梭菌毒素复合物的非限制性示例包括由肉毒梭状芽孢杆菌(Clostridium botulinum)产生的那些，例如900-kDa的BoNT/A复合物、500-kDa的BoNT/A复合物、300-kDa的BoNT/A复合物、500-kDa的BoNT/B复合物、500-kDa的BoNT/C_1复合物、500-kDa的BoNT/D复合物、300-kDa的BoNT/D复合物、300-kDa的BoNT/E复合物和300-kDa的BoNT/F复合物。

[0024] “梭菌毒素活性成分”是指包含在施用给受试者或患者时或之后发挥作用的梭菌毒素的任何部分的分子。如本文所用，术语“梭菌毒素活性成分”涵盖梭菌毒素复合物，其包含约150-kDa的梭菌毒素和统称为非毒素相关蛋白(NAP)的其它蛋白质、仅约150kDa的梭菌毒素或经修饰的梭菌毒素(例如，重新靶向的梭菌毒素)。

[0025] “畸形”是指外观、身体或功能上的不规则、缺陷、异常、不完美、变形、凹陷或畸变。

[0026] 当应用于生物活性成分时，“有效量”是指通常足以在受试者中实现期望变化的成分的量。例如，当期望的效果是自身免疫障碍症状的减轻时，有效量的成分是至少引起自身免疫障碍症状的显著减轻并且不会导致显著毒性的量。

[0027] 当用于涉及添加到梭菌毒素组合物中的赋形剂或赋形剂的特定组合的量时，“有效量”是指实现梭菌毒素活性成分的期望初始回收效能所必需的每种赋形剂的量。在该实施方案的方面，有效量的赋形剂或赋形剂的组合产生例如至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％或至少100％的初始回收效能。在该实施方案的另一个方面，治疗有效浓度的梭菌毒素活性成分使与待治疗的病痛相

关的症状减少例如至多10％、至多20％、至多30％、至多40％、至多50％、至多60％、至多70％、至多80％、至多90％或至多100％。

[0028] “重链”意指肉毒杆菌神经毒素的重链。它具有约100kDa的分子量，并且可被称为H链或H。

[0029] Hc意指来源于肉毒杆菌神经毒素的H链的片段(约50kDa)，其大致等同于H链的羧基端部区段或对应于完整H链中的该片段的部分。据信它是免疫原性的，并且含有天然或野生型肉毒杆菌神经毒素的参与与运动神经元高亲和力突触前结合的部分。

[0030] H_N意指来源于肉毒杆菌神经毒素的H链的片段(约50kDa)，其大致等同于H链的氨基端部区段或对应于完整H链中的该片段的部分。据信它含有天然或野生型肉毒杆菌神经毒素参与L链跨细胞内内吞体膜易位的部分。

[0031] “轻链”意指梭菌神经毒素的轻链。它具有约50kDa的分子量，并且可被称为L链、L或称为肉毒杆菌神经毒素的蛋白分解结构域(氨基酸序列)。

[0032] LH_N或L-H_N意指来源于包含L链的梭菌神经毒素的片段或联接到H_N结构域的其功能片段。它可通过完整的梭菌神经毒素蛋白水解以便移除或修饰Hc结构域而获得。

[0033] “植入物”意指控释(例如，脉冲或连续)组合物或药物递送体系。植入物可以例如注射、插入或植入到人体中。

[0034] “局部施用”意指在动物体内或动物体内的需要药物的生物效应的部位处或在其附近直接施用药物，例如通过肌内或皮内或皮下注射或局部给药。局部施用不包括全身施用途径，诸如静脉内或口服施用。局部给药是一种将药剂施用于患者皮肤的局部施用。

[0035] “经修饰的肉毒杆菌毒素”意指与天然肉毒杆菌毒素相比其氨基酸中的至少一者缺失、被修饰或被替换的肉毒杆菌毒素。另外，经修饰的肉毒杆菌毒素可以是重组产生的神经毒素，或重组制备的神经毒素的衍生物或片段。经修饰的肉毒杆菌毒素保留了天然肉毒杆菌毒素的至少一种生物活性，诸如结合肉毒杆菌毒素受体的能力或抑制神经元释放神经递质的能力。经修饰的肉毒杆菌毒素的一个示例是具有来自一种肉毒杆菌毒素血清型(诸如A血清型)的轻链和来自不同肉毒杆菌毒素血清型(诸如B血清型)的重链的肉毒杆菌毒素。经修饰的肉毒杆菌毒素的另一个示例是联接到神经递质(诸如物质P)的肉毒杆菌毒素。

[0036] “突变”意指天然存在的蛋白质或核酸序列的结构修饰。例如，就核酸突变而言，突变可以是DNA序列中一个或多个核苷酸的缺失、添加或取代。就蛋白质序列突变而言，突变可以是蛋白质序列中的一个或多个氨基酸的缺失、添加或取代。例如，包含蛋白质序列的特定氨基酸可以取代另一氨基酸，例如，选自包括以下项的组的氨基酸：丙氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸、酪氨酸或任何其它天然或非天然存在的氨基酸或化学修饰的氨基酸。蛋白质序列的突变可以是以下过程的结果：DNA序列突变，当转录时，所得到的mRNA翻译产生突变的蛋白质序列。还可以通过将含有期望突变的肽序列融合到期望的蛋白质序列中来产生蛋白质序列的突变。

[0037] “患者”意指接受医疗或兽医护理的人类或非人类受试者。因此，如本文所公开的组合物可用于治疗任何动物，例如哺乳动物等。

[0038] “在外围施用”或“外围施用”意指皮下、真皮内、透皮或皮下的施用，但不包括肌内施用。“外围”意指在皮下位置，并且不包括内脏部位。

[0039] “药物组合物”意指包含活性药物成分(例如,梭菌毒素活性成分诸如肉毒杆菌毒素)和至少一种附加成分(例如,稳定剂或赋形剂等)的组合物。因此,药物组合物是适用于对受试者(例如人类患者)进行诊断性或治疗性施用的制剂。药物组合物可以为例如冻干或真空干燥状态、冻干或真空干燥的药物组合物重构后形成的溶液,或者为不需要重构的溶液或固体。

[0040] “药理学上可接受的赋形剂”与“药理学赋形剂”或“赋形剂”同义,并且是指当施用于哺乳动物时基本上不具有长期或永久有害作用的任何赋形剂,并且涵盖例如稳定剂、膨松剂、冷冻保护剂、冻干保护剂、添加剂、载体、溶媒、稀释剂或辅助剂的化合物。赋形剂通常与活性成分混合,或允许稀释或包封活性成分,并且可以是固体、半固体或液体剂。还设想包含梭菌毒素活性成分的药物组合物可包含有利于将活性成分加工成药学上可接受的组合物的一种或多种药学上可接受的赋形剂。只要任何药理学上可接受的赋形剂与梭菌毒素活性成分不相容,就可设想其在药学上可接受的组合物中的用途。药理学上可接受的赋形剂的非限制性示例可见于:例如,Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems(Howard C.Ansel等人合编,Lippincott Williams&Wilkins Publishers,第7版,1999年);Remington:The Science and Practice of Pharmacy(Alfonso R.Gennaro编辑,Lippincott,Williams&Wilkins,第20版,2000年);Goodman&Gilman,The Pharmacological Basis of Therapeutics(Joel G.Hardman等人合编,McGraw-Hill Professional,第10版,2001年);以及Handbook of Pharmaceutical Excipients(Raymond C.Rowe等人,APhA Publications,第4版,2003年),这些文献中的每一者均据此全文以引用方式并入本文。

[0041] 药物组合物的组成成分可被包含在单一组合物中(即,除了任何所需的重构流体之外,所有组成成分在药物组合物的初始配混时存在)或作为双组分体系,例如,用重构载体重构的真空干燥组合物,所述重构载体可例如含有在药物组合物的初始配混中不存在的成分。双组分体系可以提供若干益处,包括允许掺入与双组分体系的第一组分的长期储存不充分相容的成分。例如,重构载体可包括防腐剂,其在使用期间(例如,冷藏储存一周)提供足够的微生物生长防护,但不用于两年的冷冻储存期,因为在此期间它可能使毒素降解。可以这种方式掺入与肉毒杆菌毒素或其它成分不能长期相容的其它成分;也就是说,在大致使用时加入第二载体(例如,在重构载体中)。药物组合物还可包括防腐剂,诸如苄醇、苯甲酸、酚、对羟基苯甲酸酯和山梨酸。药物组合物可包括:例如赋形剂,诸如表面活性剂;分散剂;惰性稀释剂;制粒剂和崩解剂;粘合剂;润滑剂;防腐剂;生理上可降解的组分,诸如明胶;含水溶媒和溶剂;油性溶媒和溶剂;悬浮剂;分散剂或润湿剂;乳化剂、缓和剂;缓冲剂;盐;增稠剂;填充剂;抗氧化剂;稳定剂;和药学上可接受的聚合性或疏水性材料,以及本领域已知的和例如Genaro编辑,1985,Remington′s Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pa中描述的其它成分,该文献以引用的方式并入本文。

[0042] “张力剂”意指包含在制剂中以提供等渗性的低分子量赋形剂。二糖(诸如海藻糖或蔗糖)、多元醇(诸如山梨醇或甘露醇)、单糖(诸如葡萄糖)以及盐(诸如氯化钠)可用作张力剂。

[0043] “多糖”意指具有超过两个糖分子单体的聚合物。这些单体可以是相同或不同的。

[0044] “稳定剂(Stabilizing agent)”、“稳定剂(stabilization agent)”或“稳定剂(stabilizer)”意指用于稳定梭菌毒素活性成分使得药物组合物的效能相对于不稳定的组

合物增加的物质。

[0045] “稳定剂”可包括赋形剂，并且可包括蛋白质和非蛋白质分子。

[0046] “治疗制剂”意指可用于治疗并由此缓解障碍或疾病的制剂，例如以外周肌肉过度活跃(即痉挛)为特征的障碍或疾病。

[0047] 如本文所用，“TEM”与“靶向胞吐作用调节剂”或“重新靶向的肽链内切酶”同义。一般来讲，TEM包含来自梭菌毒素轻链的酶结构域、来自梭菌毒素重链的易位结构域和靶向结构域。TEM的靶向结构域提供改变的细胞靶向能力，其将分子靶向除天然存在的梭菌毒素受体所利用的天然梭菌毒素受体之外的受体。这种重新靶向的能力通过将梭菌毒素的天然存在的结合结构域替换为对非梭菌毒素受体具有结合活性的靶向结构域来实现。尽管与非梭菌毒素受体结合，但TEM经历了中毒过程的所有其它步骤，包括将TEM/受体复合物内化到细胞质中、在囊泡膜和双链分子中形成孔、将酶结构域易位到细胞质中以及对靶细胞的SNARE复合物的组分施加蛋白水解作用。

[0048] “局部给药”不包括神经毒素的全身施用。换句话讲，并且与常规的治疗性透皮方法不同，局部施用肉毒杆菌毒素不会导致大量(诸如大部分)神经毒素进入患者的循环系统。

[0049] “治疗”意指暂时或永久地缓解(或消除)病症或障碍的至少一种症状，例如皱纹、痉挛、抑郁、疼痛(例如，头痛)、膀胱过度活动等。

[0050] “变体”意指相对于野生型肉毒杆菌毒素已通过替换、修饰、添加或删除至少一个氨基酸而被修饰的梭菌神经毒素(诸如野生型肉毒杆菌毒素血清型A、B、C、D、E、F或G)，该经修饰的梭菌神经毒素由靶细胞识别、被靶细胞内化并催化切割靶细胞中的SNARE(SNAP(可溶性NSF附着蛋白)受体)蛋白。

[0051] 变体神经毒素组分的示例可包含具有一个或多个氨基酸取代、修饰、缺失和/或添加的肉毒杆菌毒素的变体轻链。该变体轻链可具有相同或更好的防止胞吐作用(例如，神经递质囊泡的释放)的能力。另外，与亲本化学实体相比，变体的生物效应可降低。例如，移除了氨基酸序列的A型肉毒杆菌毒素的变体轻链可具有比亲本(或天然)A型肉毒杆菌毒素轻链更短的生物持久性。

[0052] 药物组合物

[0053] 本发明的某些实施方案包括药物组合物，该药物组合物包含梭菌毒素活性成分(诸如肉毒杆菌毒素)、二糖、表面活性剂和抗氧化剂(或由其组成或基本上由其组成)。

[0054] 本发明药物组合物的各方面部分地提供梭菌毒素活性成分。如本文所用，术语“梭菌毒素活性成分”是指梭菌毒素活性成分(例如梭菌毒素复合物、梭菌毒素、经修饰的梭菌毒素或重新靶向的梭菌毒素)的治疗有效浓度。如本文所用，术语“治疗有效浓度”与“治疗有效量”、“有效量”、“有效剂量”和“治疗有效剂量”同义，并且是指实现期望治疗效果所必需的梭菌毒素活性成分的最小剂量，并且包括足以减少与待治疗的病痛相关的症状的剂量。在该实施方案的方面，治疗有效浓度的梭菌毒素活性成分使与待治疗的病痛相关的症状减少例如至少10％、至少20％、至少30％、至少40％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％或至少100％。在该实施方案的另一个方面，治疗有效浓度的梭菌毒素活性成分使与待治疗的病痛相关的症状减少例如至多10％、至多20％、至多30％、至多40％、至多50％、至多60％、至多70％、至多80％、至多90％或至多100％。

[0055] 设想在配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物时可加入任何量的梭菌毒素活性成分，条件是梭菌毒素活性成分的治疗有效量是可恢复的。在该实施方案的方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为至少0.1U/ml、至少1.0U/ml、至少10U/ml、至少50U/ml、至少100U/ml、至少200U/ml或至少1000U/ml。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为至多0.1U/ml、至多1.0U/ml、至多10U/ml、至多50U/ml、至多100U/ml、至多200U/ml或至多1000U/ml。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约0.1U/ml至约1000U/ml或约1.0U/ml至约1000U/ml。在该实施方案的另一其他方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约0.001U/ml至约100U/ml、约0.01U/ml至约100U/ml、约0.1U/ml至约100U/ml或约1.0U/ml至约100U/ml。如本文所用，术语“单位”或“U”是指LD50剂量，其被定义为杀死50％的注射了梭菌毒素、梭菌毒素复合物或经修饰的梭菌毒素的小鼠的梭菌毒素、梭菌毒素复合物或经修饰的梭菌毒素的量。如本文所用，当限定所述项目、数目、百分比或术语的值时，术语“约”是指所述项目、百分比、参数或术语的值的正负百分之十的范围。

[0056] 在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为至少1.0pg、至少10pg、至少100pg、至少1.0ng、至少10ng、至少100ng、至少1.0μg、至少10μg、至少100μg或至少1.0mg。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为至多1.0pg、至多10pg、至多100pg、至多1.0ng、至多10ng、至多100ng、至多1.0μg、至多10μg、至多100μg或至多1.0mg。在该实施方案的另一些方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约1.0pg至约10μg、约10pg至约10μg、约100pg至约10μg、约1.0ng至约10μg、约10ng至约10μg或约100ng至约10μg。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约1.0pg至约1.0μg、约10pg至约1.0μg、约100pg至约1.0μg、约1.0ng至约1.0μg、约10ng至约1.0μg或约100ng至约1.0μg。在该实施方案的另外的方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约1.0pg至约5.0μg、约10pg至约5.0μg、约100pg至约5.0μg、约1.0ng至约5.0μg、约10ng至约5.0μg或约100ng至约5.0μg。在该实施方案的另外的方面，添加到制剂中的梭菌毒素活性成分的量为约1.0pg至约10μg、约10pg至约10μg、约100pg至约10μg、约1.0ng至约10μg、约10ng至约10μg或约100ng至约10μg。

[0057] 在该实施方案的方面，梭菌毒素药物组合物包含BoNT/A、BoNT/B、BoNT/C_1、BoNT/D、BoNT/E、BoNT/F、BoNT/G、TeNT、BaNT或BuNT。在另一个实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含梭菌毒素变体作为梭菌毒素活性成分。在该实施方案的方面，梭菌毒素药物组合物包含天然存在的梭菌毒素变体或非天然存在的梭菌毒素变体。在该实施方案的其它方面，梭菌毒素药物组合物包含BoNT/A变体、BoNT/B变体、BoNT/C_1变体、BoNT/D变体、BoNT/E变体、BoNT/F变体、BoNT/G变体、TeNT变体、BaNT变体或BuNT变体，其中变体是天然存在的变体或非天然存在的变体。

[0058] 本发明药物组合物的方面部分地提供梭菌毒素复合物作为梭菌毒素活性成分。如本文所用，术语“梭菌毒素复合物”是指包含梭菌毒素和相关NAP的复合物，例如肉毒杆菌毒素复合物、破伤风毒素复合物、巴拉提尼毒素复合物和丁酸毒素复合物。梭菌毒素复合物的非限制性示例包括由肉毒梭状芽孢杆菌产生的那些，例如900-kDa的BoNT/A复合物、500-kDa的BoNT/A复合物、300-kDa的BoNT/A复合物、500-kDa的BoNT/B复合物、500-kDa的BoNT/C_1复合物、500-kDa的BoNT/D复合物、300-kDa的BoNT/D复合物、300-kDa的BoNT/E复合物和

300-kDa的BoNT/F复合物。梭菌毒素复合物可使用以下文献中所述的方法进行纯化：Schantz,同上,(1992年);Hui Xiang等人,Animal Product Free System and Process for Purifying a Botulinum Toxin,美国专利7,354,740,这些文献中的每一者均据此全文以引用方式并入本文。梭菌毒素复合物可购自例如List Biological Laboratories,Inc.(Campbell,California)、应用微生物学和研究中心(Porton Down,U.K)、Wako(Osaka,Japan)和Sigma Chemicals(St Louis,Missouri)。

[0059] 本发明药物组合物的各方面部分地提供非蛋白质赋形剂。如本文所用,术语“非蛋白质赋形剂”是指不是包含至少十五个氨基酸的多肽的任何赋形剂。设想任何非蛋白质赋形剂都可用于配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物,条件是使用该非蛋白质赋形剂恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。

[0060] 本发明药物组合物的各方面部分地提供糖。如本文所用,术语“糖”是指包含1至10个单糖单元的化合物,例如单糖、二糖、三糖和包含四至十个单糖单元的低聚糖。设想任何糖都可用于配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物,条件是使用该糖恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。单糖是具有三个或更多个碳原子的多羟基醛或多羟基酮,包括醛糖、二醛糖、醛酮糖、酮糖和二酮糖,以及环状形式、脱氧糖和氨基糖及其衍生物,条件是亲本单糖具有(潜在的)羰基基团。单糖包括丙糖,如甘油醛和二羟基丙酮;丁糖,如赤藓糖、赤藓酮糖和苏阿糖;戊糖,如阿拉伯糖、来苏糖、核糖、核酮糖、木糖、木酮糖;己糖,如阿洛糖、阿卓糖、果糖、岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、古洛糖、艾杜糖、甘露糖、阿洛酮糖、鼠李糖、山梨糖、塔格糖、塔罗糖和海藻糖;庚糖,如景天庚酮糖和甘露庚酮糖;辛糖,如辛酮糖和2-酮基-3-脱氧基-甘露-辛酸酯;壬糖,如唾液糖;以及癸糖。低聚糖是其中至少两个单糖单元通过糖苷键连接的化合物。根据单元的数量,它们被称为二糖、三糖、四糖、五糖、六糖、七糖、八糖、九糖、十糖等。低聚糖可以是无支链的、有支链的或环状的。常见的二糖包括但不限于蔗糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、纤维二糖、龙胆二糖、曲二糖、昆布二糖、甘露二糖、蜜二糖、黑曲霉糖、芸香糖和木二糖。常见的三糖包括但不限于棉子糖、阿卡波糖、麦芽三糖和松三糖。糖赋形剂的具体用途的其它非限制性示例可见于例如Ansel,同上,(1999年);Gennaro,同上,(2000年);Hardman,同上,(2001年);以及Rowe,同上,(2003年),这些文献中的每一个均据此全文以引用方式并入本文。

[0061] 在一个实施方案中,梭菌毒素药物组合物包含糖。在该实施方案的各方面,梭菌毒素药物组合物包含单糖。在该实施方案的其它方面,梭菌毒素药物组合物包含二糖、三糖、四糖、五糖、六糖、七糖、八糖、九糖或十糖。在该实施方案的其它方面,梭菌毒素药物组合物包含含有二至十个单糖单元的低聚糖。

[0062] 设想任何量的糖都可用于配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物,条件是使用该糖量恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。在该实施方案的各方面,添加到制剂中的糖的量为约0.1%(w/w)、约0.5%(w/w)、约1.0%(w/w)、约1.5%(w/w)、约2.0%(w/w)、约2.5%(w/w)、约3.0%(w/w)、约3.5%(w/w)、约4.0%(w/w)、约4.5%(w/w)、约5.0%(w/w)、约5.5%(w/w)、约6.0%(w/w)、约6.5%(w/w)、约7.0%(w/w)、约7.5%(w/w)、约8.0%(w/w)、约8.5%(w/w)、约9.0%(w/w)、约9.5%(w/w)、约10%(w/w)、约15%(w/w)、约20%(w/w)、约25%(w/w)、约30%(w/w)或约35%(w/w)。在该实施方案的其它方面,添加到制剂中的糖的量为至少0.1%(w/w)、至少0.5%(w/w)、至少1.0%(w/w)、至少1.5%(w/w)、至少2.0%

(w/w)、至少2.5%(w/w)、至少3.0%(w/w)、至少3.5%(w/w)、至少4.0%(w/w)、至少4.5%(w/w)、至少5.0%(w/w)、至少5.5%(w/w)、至少6.0%(w/w)、至少6.5%(w/w)、至少7.0%(w/w)、至少7.5%(w/w)、至少8.0%(w/w)、至少8.5%(w/w)、至少9.0%(w/w)、至少9.5%(w/w)、至少10%(w/w)、至少15%(w/w)、至少20%(w/w)、至少25%(w/w)、至少30%(w/w)或至少35%(w/w)。在该实施方案的其它方面,添加到制剂中的糖的量为至多0.1%(w/w)、至多0.5%(w/w)、至多1.0%(w/w)、至多1.5%(w/w)、至多2.0%(w/w)、至多2.5%(w/w)、至多3.0%(w/w)、至多3.5%(w/w)、至多4.0%(w/w)、至多4.5%(w/w)、至多5.0%(w/w)、至多5.5%(w/w)、至多6.0%(w/w)、至多6.5%(w/w)、至多7.0%(w/w)、至多7.5%(w/w)、至多8.0%(w/w)、至多8.5%(w/w)、至多9.0%(w/w)、至多9.5%(w/w)、至多10%(w/w)、至多15%(w/w)、至多20%(w/w)、至多25%(w/w)、至多30%(w/w)或至多35%(w/w)。

[0063] 在一个实施方案中,本发明的梭菌毒素药物组合物包含二糖。常见的二糖包括但不限于蔗糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、纤维二糖、龙胆二糖、曲二糖、昆布二糖、甘露二糖、蜜二糖、黑曲霉糖、芸香糖和木二糖。在该实施方案的各方面,梭菌毒素药物组合物包含蔗糖。在一个具体实施方案中,梭菌毒素药物组合物包含海藻糖。在该实施方案的各方面,添加到制剂添加到制剂中的二糖的量为约0.1%(w/w)、约0.5%(w/w)、约1.0%(w/w)、约1.5%(w/w)、约2.0%(w/w)、约2.5%(w/w)、约3.0%(w/w)、约3.5%(w/w)、约4.0%(w/w)、约4.5%(w/w)、约5.0%(w/w)、约5.5%(w/w)、约6.0%(w/w)、约6.5%(w/w)、约7.0%(w/w)、约7.5%(w/w)、约8.0%(w/w)、约8.5%(w/w)、约9.0%(w/w)、约9.5%(w/w)、约10%(w/w)、约15%(w/w)、约20%(w/w)、约25%(w/w)、约30%(w/w)或约35%(w/w)。

[0064] 本发明药物组合物的各方面部分地提供表面活性剂。如本文所用,术语“表面活性剂”是指天然或合成的两亲化合物。表面活性剂可以是非离子的、两性离子的或离子的。设想任何表面活性剂都可用于配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物,条件是使用该表面活性剂量恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。表面活性剂的非限制性示例包括聚山梨酸酯,如聚山梨酸酯20(TWEEN®20)、聚山梨酸酯40(TWEEN®40)、聚山梨酸酯60(TWEEN®60)、聚山梨酸酯61(TWEEN®61)、聚山梨酸酯65(TWEEN®65)、聚山梨酸酯80(TWEEN®80)和聚山梨酸酯81(TWEEN®81);泊洛沙姆(聚乙烯-聚丙烯共聚物),如泊洛沙姆124(PLURONIC®L44)、泊洛沙姆181(PLURONIC®L61)、泊洛沙姆182(PLURONIC®L62)、泊洛沙姆184(PLURONIC®L64)、泊洛沙姆188(PLURONIC®F68)、泊洛沙姆237(PLURONIC®F87)、泊洛沙姆338(PLURONIC®L108)、泊洛沙姆407(PLURONIC®F127),聚氧乙二醇十二烷基醚,如BRIJ®30和BRIJ®35;2-十二烷氧基乙醇(LUBROL®-PX);聚氧乙烯辛基苯基醚(TRITON®X-100);十二烷基硫酸钠(SDS);solutol HS15;3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵]-1-丙磺酸酯(CHAPS);3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵]-2-羟基-1-丙磺酸酯(CHAPSO);蔗糖单月桂酸酯;以及胆酸钠。表面活性剂赋形剂的其它非限制性示例可见于例如Ansel,同上,(1999年);Gennaro,同上,(2000年);Hardman,同上,(2001年);以及Rowe,同上,(2003年),这些文献中的每一个均据此全文以引用方式并入本文。

[0065] 因此，在一个实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含表面活性剂。在该实施方案的各方面，梭菌毒素药物组合物包含聚山梨酸酯、泊洛沙姆、聚氧乙二醇十二烷基醚、2-十二烷氧基乙醇、聚氧乙烯辛基苯基醚、十二烷基硫酸钠、3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵]-1-丙磺酸酯、3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵]-2-羟基-1-丙磺酸酯、蔗糖单月桂酸酯；或者胆酸钠。

[0066] 设想任何量的表面活性剂都可用于配制本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物，条件是使用该表面活性剂量恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。在该实施方案的各方面，添加到制剂中的表面活性剂的量为约0.01％(w/w)、约0.02％(w/w)、约0.03％(w/w)、约0.04％(w/w)、约0.05％(w/w)、约0.06％(w/w)、约0.07％(w/w)、约0.08％(w/w)、约0.09％(w/w)、约0.1％(w/w)、约0.5％(w/w)、约1.0％(w/w)、约1.5％(w/w)、约2.0％(w/w)、约2.5％(w/w)、约3.0％(w/w)、约3.5％(w/w)、约4.0％(w/w)、约4.5％(w/w)、约5.0％(w/w)、约5.5％(w/w)、约6.0％(w/w)、约6.5％(w/w)、约7.0％(w/w)、约7.5％(w/w)、约8.0％(w/w)、约8.5％(w/w)、约9.0％(w/w)、约9.5％(w/w)、约10％(w/w)、约15％(w/w)、约20％(w/w)、约25％(w/w)、约30％(w/w)或约35％(w/w)。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的表面活性剂的量为至少0.01％(w/w)、至少0.02％(w/w)、至少0.03％(w/w)、至少0.04％(w/w)、至少0.05％(w/w)、至少0.06％(w/w)、至少0.07％(w/w)、至少0.08％(w/w)、至少0.09％(w/w)、至少0.1％(w/w)、至少0.5％(w/w)、至少1.0％(w/w)、至少1.5％(w/w)、至少2.0％(w/w)、至少2.5％(w/w)、至少3.0％(w/w)、至少3.5％(w/w)、至少4.0％(w/w)、至少4.5％(w/w)、至少5.0％(w/w)、至少5.5％(w/w)、至少6.0％(w/w)、至少6.5％(w/w)、至少7.0％(w/w)、至少7.5％(w/w)、至少8.0％(w/w)、至少8.5％(w/w)、至少9.0％(w/w)、至少9.5％(w/w)、至少10％(w/w)、至少15％(w/w)、至少20％(w/w)、至少25％(w/w)、至少30％(w/w)或至少35％(w/w)。在该实施方案的其它方面，添加到制剂中的表面活性剂的量为至多0.01％(w/w)、至多0.02％(w/w)、至多0.03％(w/w)、至多0.04％(w/w)、至多0.05％(w/w)、至多0.06％(w/w)、至多0.07％(w/w)、至多0.08％(w/w)、至多0.09％(w/w)、至多0.1％(w/w)、至多0.5％(w/w)、至多1.0％(w/w)、至多1.5％(w/w)、至多2.0％(w/w)、至多2.5％(w/w)、至多3.0％(w/w)、至多3.5％(w/w)、至多4.0％(w/w)、至多4.5％(w/w)、至多5.0％(w/w)、至多5.5％(w/w)、至多6.0％(w/w)、至多6.5％(w/w)、至多7.0％(w/w)、至多7.5％(w/w)、至多8.0％(w/w)、至多8.5％(w/w)、至多9.0％(w/w)、至多9.5％(w/w)、至多10％(w/w)、至多15％(w/w)、至多20％(w/w)、至多25％(w/w)、至多30％(w/w)或至多35％(w/w)。

[0067] 在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含泊洛沙姆。可与本发明药物组合物一起使用的泊洛沙姆包括泊洛沙姆124(PLURONIC®L44)、泊洛沙姆181(PLURONIC®L61)、泊洛沙姆182(PLURONIC®L62)、泊洛沙姆184(PLURONIC®L64)、泊洛沙姆188(PLURONIC®F68)、泊洛沙姆237(PLURONIC®F87)、泊洛沙姆338(PLURONIC®L108)、泊洛沙姆407(PLURONIC®F127)。在一些实施方案中，泊洛沙姆188可能更有利。

[0068] 在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含聚山梨酸酯。可与本发明药物组合物一起使用的聚山梨酸酯包括聚山梨酸酯20(TWEEN®20)、聚山梨酸酯40(TWEEN®40)、聚

山梨酸酯60(TWEEN®60)、聚山梨酸酯61(TWEEN®61)、聚山梨酸酯65(TWEEN®65)、聚山梨酸酯80(TWEEN®80)和聚山梨酸酯81(TWEEN®81)。在一些实施方案中，聚山梨酸酯20可能比一些其它聚山梨酸酯更有利。

[0069] 本发明药物组合物的各方面部分地提供至少一种抗氧化剂。抗氧化剂的非限制性示例包括但不限于甲硫氨酸、半胱氨酸、N-乙酰基半胱氨酸(NAC)、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、丁基化羟基苯甲醚、丁基化羟基甲苯、维生素E和包括Trolox C的类似物；螯合剂，诸如EDTA(乙二胺四乙酸钠盐)、DPTA(二亚乙基三胺五乙酸)或DPTA-双酰胺、钙DTP A和CaNaDPTA-双酰胺；或它们的组合。在该实施方案的各方面，添加到制剂中的抗氧化剂的量在约0.01％(w/w)至约0.10％(w/w)的范围内。

[0070] 还设想本说明书中公开的梭菌毒素药物组合物可任选地包括但不限于其它药学上可接受的组分(或药物组分)，包括但不限于缓冲剂、防腐剂、张力调节剂、盐、抗氧化剂、渗透压度调节剂、乳化剂、甜味剂或调味剂等。各种缓冲剂和用于调节pH的手段可用于制备本说明书中公开的药物组合物，条件是所得制剂是药学上可接受的。这些缓冲剂包括但不限于乙酸盐缓冲剂、硼酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、中性缓冲盐水和磷酸盐缓冲盐水。应当理解，酸或碱可用于根据需要调节药物组合物的pH。设想任何缓冲pH水平都可用于配制梭菌毒素药物组合物，条件是使用该有效pH水平恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。在该实施方案的一个方面，有效pH水平为至少约pH 5.0、至少约pH 5.5、至少约pH 6.0、至少约pH 6.5、至少约pH 7.0或至少约pH 7.5。在该实施方案的另一个方面，有效pH水平为至多约pH 5.0、至多约pH 5.5、至多约pH 6.0、至多约pH 6.5、至多约pH 7.0或至多约pH 7.5。在该实施方案的另一个方面，有效pH水平为约pH 5.0至约pH 8.0，有效pH水平为约pH 5.0至约pH 7.0，有效pH水平为约pH 5.0至约pH 6.0、为约pH 5.5至约pH 8.0，有效pH水平为约pH 5.5至约pH 7.0，有效pH水平为约pH 5.5至约pH 5.0、为约pH 5.5至约pH 7.5，有效pH水平为约pH 5.5至约pH 6.5。

[0071] 本文公开的药物组合物在重构或注射时可具有约5和8之间的pH。在某些实施方案中，组合物的pH将低于8，诸如为7.9或7.8或7.7或7.6或7.5或7.4或7.3或7.2或7.1或7.0或6.9或6.8或6.7或6.6或6.5或6.4或6.3或6.2或6.1或6.0或5.9或5.8或5.7或5.6或5.5或5.4或5.3或5.2或5.1等。在一些实施方案中，pH在5至7的范围内。

[0072] 设想任何浓度的缓冲剂都可用于配制梭菌毒素药物组合物，条件是使用该有效浓度的缓冲剂恢复治疗有效量的梭菌毒素活性成分。在该实施方案的各方面，缓冲剂的有效浓度为至少0.1mM、至少0.2mM、至少0.3mM、至少0.4mM、至少0.5mM、至少0.6mM、至少0.7mM、至少0.8mM或至少0.9mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至少1.0mM、至少2.0mM、至少3.0mM、至少4.0mM、至少5.0mM、至少6.0mM、至少7.0mM、至少8.0mM或至少9.0mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至少10mM、至少20mM、至少30mM、至少40mM、至少50mM、至少60mM、至少70mM、至少80mM或至少90mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至少100mM、至少200mM、至少300mM、至少400mM、至少500mM、至少600mM、至少700mM、至少800mM或至少900mM。在该实施方案的另外方面，缓冲剂的有效浓度为至多0.1mM、至多0.2mM、至多0.3mM、至多0.4mM、至多0.5mM、至多0.6mM、至多0.7mM、至多0.8mM或至多0.9mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至多1.0mM、至多2.0mM、至多

3.0mM、至多4.0mM、至多5.0mM、至多6.0mM、至多7.0mM、至多8.0mM或至多9.0mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至多10mM、至多20mM、至多30mM、至多40mM、至多50mM、至多60mM、至多70mM、至多80mM或至多90mM。在该实施方案的其它方面，缓冲剂的有效浓度为至多100mM、至多200mM、至多300mM、至多400mM、至多500mM、至多600mM、至多700mM、至多800mM或至多900mM。在该实施方案的另外方面，缓冲剂的有效浓度为约0.1mM至约900mM、0.1mM至约500mM、0.1mM至约100mM、0.1mM至约90mM、0.1mM至约50mM、1.0mM至约900mM、1.0mM至约500mM、1.0mM至约100mM、1.0mM至约90mM或1.0mM至约50mM。

[0073] 本发明的实施方案可用包含多种肉毒杆菌毒素血清型(诸如，选自肉毒杆菌毒素血清型A、B、C_1、D、E、F和G的肉毒杆菌毒素血清型)的组合物实施。在某些实施方案中，可使用纯化的肉毒杆菌毒素。在其它实施方案中，可使用修饰的肉毒杆菌毒素。

[0074] 在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物可被配制成冻干(即冷冻干燥)或真空干燥的粉末，其可在向患者施用之前用合适的流体诸如盐水或水重构。在另选的实施方案中，药物组合物可被配制成水溶液或悬浮液。

[0075] 在一些实施方案中，固体梭菌毒素药物组合物包含肉毒杆菌毒素、张力剂、泊洛沙姆和/或聚山梨酸酯和抗氧化剂。在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含肉毒杆菌毒素。在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含海藻糖。在一些实施方案中，梭菌毒素药物组合物包含泊洛沙姆188或聚山梨酸酯20。在一些实施方案中，组合物包含EDTA或EDTA类似物。在另选的实施方案中，组合物包含甲硫氨酸和/或NAC。在这些另选实施方案的各方面，组合物还包含EDTA或EDTA类似物。在一些实施方案中，该组合物还包含缓冲剂。在一个实施方案中，组合物包含组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，海藻糖、泊洛沙姆和甲硫氨酸的相对重量分别在以下范围内：1至10％；0.5至5％和0.1至0.3％。在一些实施方案中，海藻糖、聚山梨酸酯和甲硫氨酸的相对重量分别在以下范围内：1至10％；0.02至0.06％；以及0.1至0.3％。在一些实施方案中，EDTA或EDTA类似物的相对重量为约0.01至0.10％。在一些实施方案中，NAC的相对重量在0.01至0.5％的范围内。

[0076] 在这些实施方案的各方面，梭菌毒素药物组合物被配制成固体(即冻干或真空干燥)组合物。在一些实施方案中，固体药物组合物包含相对重量为0.01至0.05％的NAC。在一些实施方案中，药物组合物还包含EDTA或EDTA类似物。在另选的实施方案中，固体药物组合物包含甲硫氨酸和EDTA或EDTA类似物。

[0077] 在这些实施方案的一个另选方面，梭菌毒素药物组合物被配制成液体。在一些实施方案中，液体药物组合物包含相对重量为0.1至0.5％的NAC。在一些实施方案中，液体药物组合物包含NAC和EDTA或EDTA类似物。在一些实施方案中，液体药物组合物包含组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，液体药物组合物具有5至7的pH。

[0078] 治疗方法

[0079] 在实施方案中，本发明提供治疗疾病、障碍、病症等的方法，该方法包括以下步骤：以足以产生改善患者功能的量向对其有需要的受试者施用本发明的药物制剂。在某些实施方案中，该疾病具有神经肌肉性质，例如，影响肌肉及其神经控制的那些疾病，诸如膀胱过度活动症等。某些实施方案涉及治疗疼痛，例如治疗头痛、或背痛或肌肉痛等。在某些实施方案中，本发明的方法包括治疗心理障碍，包括例如抑郁、焦虑等。

[0080] 本发明的组合物和方法可用于治疗、减轻以下疾病的症状并且/或者预防以下疾

病:例如贲门失弛缓症、肛裂、肛门痉挛、眼睑痉挛、脑性麻痹、颈肌张力障碍、颈源性头痛、面肌痉挛、皮肤出汗障碍性湿疹、吞咽困难、发音困难、食管运动功能障碍、食管肌肉环、内斜视(婴儿)、眼部上提、面部肌纤维颤搐、步态异常(特发性脚趾行走)、全身型肌张力障碍、半侧面肌痉挛、功能亢进性皱纹(眉间皱纹、前额皱纹、眼角鱼尾纹、嘴角下撇)、多汗症、尿失禁(特发性或神经性)、药物过度使用性头痛、偏头痛、肌阵挛、肌肉量或活动减少(涉及例如咬肌等)、肌筋膜疼痛综合征、阻塞性泌尿症状、胰腺分裂胰腺炎、帕金森氏病、耻骨直肠肌综合征、手术瘢痕张力减少、唾液分泌过多、涎腺囊肿、外展神经麻痹、痉挛状态、言语/发声障碍、斜视、手术附属物(眼科)、迟发性运动障碍、颞下颌关节紊乱症、紧张性头痛、胸廓出口综合征、扭转性肌张力障碍、斜颈、妥瑞症、震颤、挥鞭相关颈部疼痛、疼痛、瘙痒、炎症、过敏、癌症和良性肿瘤、发烧、肥胖、传染病、病毒和细菌、高血压、心律失常、血管痉挛、动脉粥样硬化、内皮增生、静脉血栓形成、静脉曲张、口腔炎、多涎、颞下颌关节综合征、多汗症、腋臭、痤疮、红斑痤疮、色素沉着过度、肥厚性瘢痕、瘢痕疙瘩、老茧和鸡眼、皮肤起皱、皮脂分泌过多、牛皮癣、皮炎、过敏性鼻炎、鼻塞、鼻液倒流、打喷嚏、耳垢、浆液性和化脓性中耳炎、扁桃体和腺样体肥大、耳鸣、头晕、眩晕、声音嘶哑、咳嗽、睡眠呼吸暂停、打鼾、青光眼、结膜炎、葡萄膜炎、斜视、格里夫氏症、毛发过度生长、脱发、哮喘、支气管炎、肺气肿、粘液分泌、胸膜炎、凝血功能障碍、骨髓增生性疾病、涉及嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞的疾病、免疫耐受和移植、自体免疫性疾病、吞咽困难、胃酸反流、食管裂孔疝、胃炎和胃酸过多、腹泻和便秘、痔疮、尿失禁、前列腺肥大、勃起功能障碍、阴茎持续勃起症和佩罗尼氏病、附睾炎、避孕、经期痉挛、预防早产、子宫内膜异位和肌瘤、关节炎、骨关节炎、类风湿、黏液囊炎、肌腱炎、腱鞘炎、纤维肌痛、癫痫症、痉挛、头痛和神经痛。

[0081] 在某些实施方案中,在任何90天的时间段内限制向患者施用最高360U的肉毒杆菌毒素。

[0082] 神经/肌肉病症的治疗

[0083] 在一个实施方案中,神经肌肉疾病是多汗症。例如,患有多汗症的受试者在每次的治疗中接受每腋窝约59U、或每腋窝约58U、或每腋窝约57U、或每腋窝约56U、或每腋窝约55U、或每腋窝约54U、或每腋窝约53U、或每腋窝约52U、或每腋窝约51U、或每腋窝约50U、或每腋窝约49U、或每腋窝约48U、或每腋窝约47U、或每腋窝约46U、或每腋窝约45U、或每腋窝约44U、或每腋窝约43U、或每腋窝约42U、或每腋窝约41U、或每腋窝约40U、或每腋窝约39U、或每腋窝约38U、或每腋窝约37U、或每腋窝约36U或更少的本发明药物制剂。在一个实施方案中,将50U总剂量皮内注射到间隔约1cm至2cm的10至15个部位中。

[0084] 在一个实施方案中,神经肌肉疾病为半侧面肌痉挛。患有半侧面肌痉挛的受试者例如在每次的治疗中接受约1.5U至15U的本发明药物制剂。在另一个示例中,受试者在每次治疗中接受施用给患有半侧面肌痉挛的患者的介于约1.5U至3U、1.5U至5U、1.5U至7U、1.5U至10U、1.5U至12U、1.5U至15U、5U至10U、5U至15U或10U至15U之间。在又一个示例中,患有半侧面肌痉挛的受试者在每次治疗中接受约1.5U、约2U、约2.5U、约3U、约3.5U、约4U、约4.5U、约5U、约5.5U、约6U、约6.5U、约7U、约7.5U、约8U、约8.5U、约9U、约9.5U、约10U、约10.5U、约11U、约11.5U、约12U、约12.5U、约13U、约13.5U、约14U、约14.5U或约15U。在每次治疗中,还可向患有半侧面肌痉挛的患者施用大于15U的剂量,以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0085] 在一个实施方案中，神经肌肉疾病为颈肌张力障碍。例如，患有颈肌张力障碍的受试者在每次的治疗中接受约15至300U的本发明的药物制剂。在另一个示例中，受试者接受施用给患有颈肌张力障碍的患者的介于约35至250U、65至200U、85至175U、105至160U或125至145U之间。在一个实施方案中，对于胸锁乳突肌的剂量限制在100U或更低。在每次治疗中，还可向颈肌张力障碍患者施用大于300U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0086] 在一个实施方案中，神经肌肉疾病为眼睑痉挛。例如，患有眼睑痉挛的受试者接收约1.25至2.5U之间的本发明的药物制剂，所述制剂被注射到上眼睑的内侧和侧向睑板前眼轮匝肌以及下眼睑的侧向睑板前眼轮匝肌中。在另一个示例中，，受试者在每个注射部位接收约1.5U、约1.6U、约1.7U、约1.8U、约1.9U、约2.0U、约2.1U、约2.2U、约2.3U、约2.4U、约2.5U或更多。治疗期可包括多次治疗。

[0087] 在一个实施方案中，神经肌肉疾病为斜视。例如，患有斜视的受试者在每个注射部位接受约1.25至2.5U的本发明的药物制剂。在另一个示例中，受试者在每个注射部位接收约1.5U、约1.6U、约1.7U、约1.8U、约1.9U、约2.0U、约2.1U、约2.2U、约2.3U、约2.4U、约2.5U、或更多以实现治疗反应。在实施方案中，对于治疗的较小偏差，使用较低剂量。在实施方案中，对于垂直肌肉和小于20棱镜直径的水平斜视，每个注射部位可用1.25至2.5U进行治疗。治疗期可包括多次治疗。

[0088] 在一个实施方案中，神经肌肉疾病为肌肉痉挛。例如，患有肌肉痉挛的受试者在每次治疗中接受约20至200U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给肌肉痉挛患者时，受试者在每次治疗中接受约20至30U、20至40U、20至60U、20至80U、20至100U、20至125U、20至150U或20至175U。在又一个示例中，在施用给肌肉痉挛患者时，受试者在每次治疗中接受约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U、约50U、约55U、约60U、约65U、约70U、约75U、约80U、约85U、约90U、约95U、约100U、约105U、约110U、约115U、约120U、约125U、约130U、约135U、约140U、约145U、约150U、约155U、约160U、约165U、约170U、约175U、约180U、约185U、约190U、约195U或约200U。在一个实施方案中，肱二头肌可分成4个注射部位注射100U至200U。在一个实施方案，桡侧腕屈肌可在1个注射部位注射12.5U至50U。在一个实施方案中，尺侧屈腕肌可在1个注射部位注射12.5U至50U。在一个实施方案，指深屈肌可在一个注射部位注射30U至50U。在一个实施方案，指深屈肌可在单个注射部位注射30U至50U。在每次治疗中，还可向肌肉痉挛患者施用大于200U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0089] 疼痛的治疗

[0090] 在另一个实施方案中，本发明提供了用于治疗疼痛的方法，该方法包括以下步骤：将本发明的药物制剂以足以减轻疼痛的量施用给对其有需要的受试者。在另一个实施方案中，患者患有肌筋膜疼痛、偏头痛、紧张性头痛、神经性疼痛、面部疼痛、下背部疼痛、窦性头痛、与颞下颌关节病有关的疼痛、与痉挛或颈肌张力障碍有关的疼痛、术后创伤疼痛或神经痛。治疗期可包括多次治疗。

[0091] 在一个实施方案中，患者患有面部疼痛。例如，患有面部疼痛的受试者在每次治疗中接受介于约4至40U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给患有面部疼痛的患者时，受试者在每次治疗中接受约4至10U、4至15U、4至20U、4至25U、4至30U、4至35U、7至15U、7至20U、7至25U、7至30U、7至35U、或7至40U。在又一个示例中，在施用给面部疼痛患

者时，受试者在每次治疗中接受约4U、约5U、约7.5U、约10U、约12.5U、约15U、约17.5U、约20.0U、约22.5U、约25.0U、约27.5U、约30.0U、约32.5U、约35U、约37.5U或约40U。在每次治疗中，还可向面部疼痛患者施用大于40U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0092] 在一个实施方案中，患者患有肌筋膜疼痛。例如，患有肌筋膜疼痛的受试者在每次治疗中接受约5至100U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给患有肌筋膜疼痛的患者时，受试者在每次治疗中接受约5至10U、5至20U、5至30U、5至40单位、5至50单位、5至60单位、5至70单位、5至80单位、5至90U、10至20U、10至30U、10至50U、或10至60U、或10至70U、或10至80U、或10至90U，或10至100U。在另一个示例中，在施用给肌筋膜疼痛患者时，受试者在每次治疗中接受约5U、约10U、约15U、约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U、约50U、约55U、约60U、约65U、约70U、约75U、约80U、约85U、约90U、约95U或约100U。在每次治疗中，还可向肌筋膜疼痛患者施用大于100U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0093] 在一个实施方案中，受试者患有下背部疼痛。例如，患有下背部疼痛的受试者在每次治疗中接受约15至150U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给下背部疼痛患者时，受试者在每次治疗中接受约15至30U、15至50U、15至75U、15至100U、15至125U、15至150U、20至100U、20至150U、或100至150U。在又一个示例中，在施用给下背部疼痛患者时，受试者在每次治疗中接受约15U、约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U、约50U、约55U、约60U、约65U、约70U、约75U、约80U、约85U、约90U、约95U、约100U、约105U、约1I0U、约115U、约120U、约125U、约130U、约135U、约140U、约145U或约150U。在每次治疗中，还可向下背部疼痛患者施用大于150U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0094] 在一个实施方案中，患者患有偏头痛，包括其中患者每月偏头痛发作4小时或更多、15天或更多。例如，患有偏头痛的受试者在每次治疗中接受约0.5至200U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给患有偏头痛的患者时，受试者在每次治疗中接受约5至190U、15至180U、25至170U、35至160U、45至150U、55至140U、65至130U、75至120U、85至1I0U或95至105U。治疗期可包括多次治疗。

[0095] 例如，在施用给偏头痛患者时，受试者在每个治疗部位接受约0.5U、约1.0U、约1.5U、约2.0U、约2.5U、约3.0U、约3.5U、约4.0U、约4.5U、约5.0U、约5.5U、约6.0U、约6.5U、约7.0U、约7.5U、约8.0U、约8.5U、约9.0U、约9.5U、约10.0U、约12U、约15U、约17U、约20U、约22U、约25U、约27U、约30U、约32U、约35U、约37U、约40U、约42U、约45U、约47U或约50U。患者可以在多个部位进行治疗，例如，2个部位、3个部位、4个部位、5个部位、6个部位、7个部位、8个部位、9个部位、10个部位、11个部位、12个部位、13个部位、14个部位、15个部位、16个部位、17个部位、18个部位、19个部位、20个部位、21个部位、22个部位、23个部位、24个部位、25个部位、26个部位、27个部位、28个部位、29个部位、30个部位、31个部位、32个部位或以上等。在一个实施方案中，给患有偏头痛的患者注射31次(每0.1mL注射5U)，部位为皱眉肌(2次注射，每次5U)、降眉间肌(1次注射5U)、额肌(4次注射，每次5U)、颞肌(8次注射，每次5U)、枕肌(6次注射，每次5U)、颈椎旁肌(4次注射，每次5U)和斜方肌(6次注射，每次5U)。在某些实施方案中，除了降眉间肌可在中线处注射外，所有肌肉均可双侧注射，其中一半注射部位在头部和颈部的左侧，另一半在头部和颈部的右侧。在每次治疗中，还可向偏头痛患者施用大于200U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0096] 在一个实施方案中，患者患有窦性头痛。例如，患有窦性头痛的受试者在每次治疗中接受约4至40U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给患有窦性头痛的患者时，受试者在每次治疗中接受约4至10U、4至15U、4至20U、4至25U、4至30U、4至35U、7至15U、7至20U、7至25U、7至30U、7至35U或7至40U。在又一个示例中，在施用给窦性头痛患者时，受试者在每次治疗中接受约4U、约5U、约7.5U、约10U、约12.5U、约15U、约17.5U、约20.0U、约22.5U、约25.0U、约27.5U、约30.0U、约32.5U、约35U、约37.5U或约40U。在每次治疗中，还可向窦性头痛患者施用大于40U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0097] 在一个实施方案中，患者患有紧张性头痛。例如，患有紧张性头痛的受试者在每次治疗中接受约5至50U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给紧张性头痛患者时，受试者在每次治疗中接受约5至10U、5至15U、5至20U、5至25U、5至30U、5至35U、5至40U、5至45U、10至20U、10至25U、10至30U、10至35U、10至40U或10至45U。在又一个示例中，在施用给紧张性头痛患者时，受试者在每次治疗中接受约5U、约10U、约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U或约50U。在一个实施方案中，给患有紧张性头痛的患者注射31次(每0.1mL注射5U)，部位为皱眉肌(2次注射，每次5U)、降眉间肌(1次注射5U)、额肌(4次注射，每次5U)、颞肌(8次注射，每次5U)、枕肌(6次注射，每次5U)、颈椎旁肌(4次注射，每次5U)和斜方肌(6次注射，每次5U)。在某些实施方案中，除了降眉间肌可在中线处注射外，所有肌肉均可双侧注射，其中一半注射部位在头部和颈部的左侧，另一半在头部和颈部的右侧。在每次治疗中，还可向紧张性头痛患者施用大于200U的剂量，以实现治疗反应。治疗期可包括多次治疗。

[0098] 在一个实施方案中，患者患有与急性或复发性慢性窦炎相关的窦性头痛或面部疼痛。例如，可将本发明的药物制剂施用于鼻粘膜或覆盖鼻窦的皮下结构，其中该制剂的施用减少了与急性复发或慢性窦炎相关的头痛和/或面部疼痛。在另外的实施方案中，可将本发明的药物制剂中的任一者施用于鼻粘膜或覆盖鼻窦的皮下结构，诸如在选自由以下项组成的组的鼻窦中的一者或多者之上：筛窦；上颌窦；乳突；额窦；和蝶窦。在另一个实施方案中，覆盖鼻窦的皮下结构位于选自由以下项组成的组的区域中的一者或多者内：前额；颧骨；颞；耳后；和嘴唇。在实施方案中，施用每次5U的多次注射以治疗与急性或复发性慢性鼻窦炎相关的窦性头痛或面部疼痛。

[0099] 在另一个实施方案中，通过将本发明的药物制剂中的任一者施用于患者的患病区域来治疗患有与急性或复发性慢性鼻窦炎相关的窦性头痛或面部疼痛的患者。在另一个实施方案中，将本文所公开的药物制剂施用于支配鼻窦的三叉神经的突起。

[0100] 患有与急性或复发性慢性鼻窦炎相关的窦性头痛或面部疼痛的患者通常表现出包括鼻炎、鼻窦分泌过多和/或脓涕在内的症状。在一个实施方案中，用本发明的药物制剂治疗的患者表现出鼻窦分泌过多和脓涕的症状。

[0101] 本发明的实施方案还提供了用于治疗患有与急性或复发性慢性鼻窦炎相关的窦性头痛或面部疼痛的患者的方法，其中该受试者患有神经痛。在某些实施方案中，神经痛为三叉神经痛。在另一个实施方案中，神经痛为：与感觉神经上的压力相关；与内在神经损伤、脱髓鞘疾病或遗传性障碍有关；与代谢紊乱有关；与中枢神经脉管疾病相关；或与创伤相关。在本发明的另一个实施方案中，疼痛与拔牙或植牙相关。

[0102] 泌尿障碍的治疗

[0103] 在一个实施方案中，本发明还提供了用于治疗患有膀胱过度活动症(OAB)(诸如由神经系统病症导致的(NOAB)或特发性OAB(IOAB))的患者的方法。例如，可将本发明的药物制剂施用于膀胱或其附近(例如，逼尿肌)，其中制剂的施用减少了与膀胱过度活动症相关的急迫性尿失禁。在某些实施方案中，该剂量可为例如200U、或以上、或以下等。例如，在每次治疗中，剂量可为约15U、约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U、约50U、约55U、约60U、约65U、约70U、约75U、约80U、约85U、约90U、约95U、约100U、约105U、约110U、约115U、约120U、约125U、约130U、约135U、约140U、约145U、约150U、约160U、约170U、约180U、约190U、约200U、约210U、约220、约230U、约240U或以上等。患者可以在多个部位进行注射，例如，2个部位、3个部位、4个部位、5个部位、6个部位、7个部位、8个部位、9个部位、10个部位、11个部位、12个部位、13个部位、14个部位、15个部位、16个部位、17个部位、18个部位、19个部位、20个部位、21个部位、22个部位、23个部位、24个部位、25个部位、26个部位、27个部位、28个部位、29个部位、30个部位、31个部位、32个部位、33个部位、34个部位、35个部位、36个部位、37个部位、38个部位或以上等。在一个实施方案中，对于患有OAB的患者的治疗，将301mL(每次注射约6.7U)注射到逼尿肌中。

[0104] 在一个实施方案中，本发明还提供了用于治疗患有(诸如由神经系统病症导致的)神经源性逼尿肌过度活动症(NDO)的患者的方法。例如，可将本发明的药物制剂施用于膀胱或其附近(例如，逼尿肌)，其中制剂的施用减少了与膀胱过度活动症相关的急迫性尿失禁。在某些实施方案中，该剂量可为例如200U、或以上、或以下等。例如，在每次治疗中，剂量可为约15U、约20U、约25U、约30U、约35U、约40U、约45U、约50U、约55U、约60U、约65U、约70U、约75U、约80U、约85U、约90U、约95U、约100U、约105U、约110U、约115U、约120U、约125U、约130U、约135U、约140U、约145U、约150U、约160U、约170U、约180U、约190U、约200U、约210U、约220、约230U、约240U或以上等。患者可以在多个部位进行注射，例如，2个部位、3个部位、4个部位、5个部位、6个部位、7个部位、8个部位、9个部位、10个部位、11个部位、12个部位、13个部位、14个部位、15个部位、16个部位、17个部位、18个部位、19个部位、20个部位、21个部位、22个部位、23个部位、24个部位、25个部位、26个部位、27个部位、28个部位、29个部位、30个部位、31个部位、32个部位或以上等。在一个实施方案中，对于患有NDO的患者的治疗，将301mL(每次注射约6.7U)注射到逼尿肌中。

[0105] 美容特征的治疗

[0106] 在另一个实施方案中，本发明提供了用于美容修饰软组织特征的方法，包括以下步骤：将本发明的至少一种药物制剂以足以修饰所述特征的量施用给对其有需要的受试者。在另一个实施方案中，药物制剂通过经皮注射或经粘膜注射在单个焦点或多个病灶处施用。

[0107] 在实施方案中，将本发明的药物制剂施用于受试者的面部或颈部。在另一个实施方案中，将本发明的药物制剂以足以减少皱纹的量施用给受试者。例如，可将制剂以足以减少眉毛和鼻梁之间的垂直线的量施用于受检者的眉毛之间。也可将药物制剂以足以减少眼角处的线条的量施用于受试者的一只眼睛或两只眼睛附近。在一个实施方案中，可将本发明的组合物局部注入平滑皮肤。在另一个实施方案中，还可将本发明的药物制剂以足以降低前额上的水平线的量施用于受试者的所述前额。在本发明的另一个实施方案中，将药物制剂以足以减少颈部肌肉带的量施用于受试者的颈部。在一个实施方案中，将药物组合物

施用于咬肌，以放松肌肉和/或减少咬肌块。

[0108] 在另一个实施方案中，患者具有面部皱纹。例如，具有面部皱纹的受试者可在每次治疗中接受约1至100U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给炎性病症患者时，受试者在每次治疗中接受约1至10U、1至20U、1至30U、1至40U、1至50U、1至60U、1至70U、1至80U、1至90U、5至20U、5至30U、5至40U、5至50U、5至60U、5至70U、5至80U、5至90U或5至100U。在另一个示例中，在施用给患者时，受试者在每次治疗中接受约1U、约I0U、约20U、约30U、约40U、约50U、约60U、约70U、约80U、约90U或约100U。在每次治疗中，还可向患有炎症或炎性病症的患者施用大于100U的剂量，以实现治疗反应。

[0109] 炎症的治疗

[0110] 在另一个实施方案中，本发明提供了用于治疗炎症的方法，该方法包括以下步骤：将本发明的药物制剂以足以减少炎症的量施用给对其有需要的受试者。在某些实施方案中，将本发明的药物制剂施用给患者而不产生肌无力。在一个实施方案中，将本发明的药物制剂施用给具有炎性病症的患者。在某些实施方案中，该炎性病症为神经源性炎症。在另一个实施方案中，受试者患有类风湿性关节炎或肠胃炎性疾病。

[0111] 在另一个实施方案中，患者患有炎性病症。例如，患有炎性病症的受试者在每次治疗中接受约1至100U之间的本发明的药物制剂。在另一个示例中，在施用给炎性病症患者时，受试者在每次治疗中接受约1至10U、1至20U、1至30U、1至40U、1至50U、1至60U、1至70U、1至80U、1至90U、5至20U、5至30U、5至40U、5至50U、5至60U、5至70U、5至80U、5至90U或5至100U。在另一个示例中，在施用给患者时，受试者在每次治疗中接受约1U、约10U、约20U、约30U、约40U、约50U、约60U、约70U、约80U、约90U或约100U。在每次治疗中，还可向患有炎症或炎性病症的患者施用大于100U的剂量，以实现治疗反应。

[0112] 皮肤病症的治疗

[0113] 在本发明范围内的用于治疗皮肤疾病的方法可具有以下步骤：将肉毒杆菌神经毒素局部施用于患者皮肤疾病的位置，诸如患者的面部、手或脚。神经毒素可以约10^{-3}单位/kg患者体重至约35单位/kg患者体重之间的量局部施用。例如，神经毒素可以约10^{-2}U/kg患者体重至约25U/kg患者体重之间的量局部施用。在另一个示例中，神经毒素以约10^{-1}U/kg至约15U/kg之间的量施用。在本发明范围内的一种方法中，神经毒素以约1U/kg至约10U/kg之间的量局部施用。在临床环境中，通过局部施用或通过皮下施用将1U至3000U的神经毒素(例如A型或B型肉毒杆菌毒素)施用于皮肤疾病位置以有效治疗皮肤疾病可能是有利的。

[0114] 肉毒杆菌毒素的施用可以在皮肤中的多个部位进行，其中相邻注射部位相隔约0.1至10cm、或约0.5至约5cm，例如相隔约1.5至约3cm。毒素可以是肉毒杆菌毒素A、B、C、D、E、F或G中的任一者。根据制造商的规格、毒素的类别和施用模式，施用的量可以在0.1至1000U、或约1至约40U、或约5至约10U之间变化。用于维持期望变化的这些施用的重复时间范围根据注射的位置、待调节的病症和患者的状况而显著变化。因此，重复时间可在约1周至约50周之间变化，然而常见的范围为约4至约25周，或甚至约12周至约16周。

[0115] 施用(例如，注射)之间的距离可在约1mm至约10cm之间、适当地约5mm至约5cm之间以及更通常地约1cm至约3cm之间变化。因此，例如肉毒杆菌A可适当地以约0.5至约10cm之间的距离通过皮内注射施用约0.1至约10U。

[0116] 在另一个实施方案中，本发明提供了用于治疗皮肤病的方法，该方法包括以下步

骤:将本发明的药物制剂以足以减少皮质或粘液分泌的量施用给对其有需要的受试者。在另一个实施方案中,将本发明的药物制剂施用给患者而不产生肌无力。在某些实施方案中,将本发明的药物制剂注射到眼睑或结膜的一个或多个部位中。在另一个实施方案中,将本发明的制剂施用于身体表面。

[0117] 在另一个实施方案中,药物制剂以足以减少皮肤细菌或真菌生长的量施用,包括但不限于葡萄球菌、链球菌和莫拉氏菌。例如,将本发明的药物制剂施用于选自由以下项组成的组的区域以减少皮肤感染:眼睑;头皮;脚;腹股沟;和腋窝。

[0118] 实施例

[0119] 以下实施例示出了本发明的实施方案和方面,并非旨在限制本发明的范围。

[0120] 实施例1:与现有技术制剂相关的示例性固体梭菌药物组合物的活性和稳定性。

[0121] 如下表1-3中所述,通过将A型肉毒杆菌毒素的适当等分试样与若干载体溶液混合来制备肉毒杆菌毒素的本体溶液。将溶液装入玻璃小瓶中,并使用常规冷冻干燥条件冻干。在用盐水重构冻干物后,通过基于细胞的效能测定法(CBPA)测试冻干制剂的效能。表中提供了冷冻干燥后和在指定温度下储存后的效能恢复结果,并归一化至目标效能(添加到制剂中的已知毒素量)。如表1-3中所示,将根据本发明方面制备的固体组合物的效能与现有技术制剂进行比较。

[0122] 表1.1:冻干制剂

[0123]

	赋形剂, % w/w							归一化效能, 储存于25℃		
制剂	Treh	TWEEN®20	P188	NaCl	Met	NAC	缓冲剂	T0	3个月	6个月
对比物1	3	0.04		0.9	0.2	-	水	80.6%	86.4%	80.8%
对比物2	2	-	4	-	-	-	20mM组氨酸pH 5.5	81.5%	68.6%	68.0%
制剂1	2	-	4	-	-	0.03	20mM组氨酸	98.6%	91.9%	86.9%

[0124]

							pH 5.5			

[0125] Treh=海藻糖;P 188=泊洛沙姆P 188;Met=L-甲硫氨酸;NAC=N-乙酰-L-半胱氨酸。

[0126] 表1.2:冻干制剂

[0127]

	赋形剂，% w/w							归一化效能，储存于40℃		
制剂	Treh	TWEEN®20	P188	NaCl	Met	NAC	缓冲剂	1个月	3个月	6个月
对比物1	3	0.04		0.9	0.2	-	水	74.8%	70.3%	24.0%
对比物2	2	-	4	-	-	-	20mM 组氨酸 pH 5.5	64.8%	57.8%	46.8%
制剂1	2	-	4	-	-	0.03	20mM 组氨酸 pH 5.5	86.5%	77.9%	62.3%

[0128] Treh＝海藻糖;P 188＝泊洛沙姆P 188;Met＝L-甲硫氨酸;NAC＝N-乙酰-L-半胱氨酸。

[0129] 表2:冻干制剂

[0130]

	赋形剂，% w/w								归一化效能（目标%）		
制剂	Treh	Sucr	TWEEN®20	P188	NaCl	Met	NAC	缓冲剂	T0	1个月，-20℃	1个月，40℃
对比物2	2			4				20mM 组氨酸 pH 5.5	87.15%	88.95%	76.32%
对比物3		3	0.04		0.9	0.2		水	84.06%	85.18%	72.68%
制剂2	2			4		0.2		20mM 组氨酸 pH 6.0	98.60%	120.85%	91.17%
制剂3	8		0.04				0.03	20mM 组氨酸 pH 6.0	105.2%	110.05%	96.89%

[0131] Treh＝海藻糖;Sucr＝蔗糖;P188＝泊洛沙姆P188;Met＝L-甲硫氨酸;NAC＝N-乙酰-L-半胱氨酸。

[0132] 表3:冻干制剂

[0133]

	赋形剂，% w/w								归一化效能，储存于25℃		
制剂	Treh	Sucr	TWEEN®20	P188	NaCl	Met	NAC	缓冲剂	T0	3个月	7.5个月
对比物2	2			4				20mM组氨酸pH 5.5	87.1%	78.0%	78.0%
制剂2	2			4	-	0.2		20mM组氨酸pH 6.0	98.6%	97.0%	98.0%
制剂4	8			0.6		0.2		20mM组氨酸pH 6.0	86.5%	83.0%	84.0%

[0134] P-188＝泊洛沙姆P-188;Met＝L-甲硫氨酸。

[0135] 实施例2:在抗氧化剂存在或不存在下液体梭菌药物组合物的活性

[0136] 如表4中所示,通过将BoNT/A药物物质(DS)的适当等分试样与三种不同的载体溶液混合来制备本体药物产品溶液。所有三种制剂在pH 6.0下含有8%w/w的海藻糖、4%w/w的P 188和20mM的组氨酸缓冲剂。制剂10不含有抗氧化剂。制剂11和12分别含有NAC和甲硫氨酸。将本体溶液装入2mL玻璃瓶(1.25mL填充)中,并用橡胶塞和铝壳密封。在填充(零时间,t0)和四个温度(-70℃、5℃、25℃和40℃)下储存一个月后,通过基于细胞的效能测定法(CBPA)测试制剂的效能。效能测试结果在表4中给出。简而言之,含甲硫氨酸的制剂(#12)在包括40℃在内的所有四个温度下储存一个月后保持其效能,而不含抗氧化剂的制剂在25℃下损失了约15%的效能并且在40℃下基本上损失了所有活性(即完全失活)。与不含抗氧化剂的制剂相比,所测试的第二抗氧化剂N-乙酰-L-半胱氨酸加速了效能损失,表明N-乙酰-L-半胱氨酸在该制剂中充当促氧化剂。

[0137] 表4:液体制剂

[0138]

		效能，U/mL				
制剂编号*	抗氧化剂	T0	1个月，-70℃	1个月，5℃	1个月，25℃	1个月，40℃
制剂10	无	128	135	135	106	0.225
制剂11	N-乙酰-L-半胱氨酸，0.2% w/w	128	133	129	61	0.2
制剂12	L-甲硫氨酸，0.2% w/w	133	146	146	145	138

[0139] *每种制剂均含有溶于组氨酸缓冲剂中的相同量的肉毒杆菌毒素、8w/w%海藻糖和4w/w%泊洛沙姆P188。

[0140] 实施例3:示例性抗氧化剂对示例性液体制剂稳定性的影响。

[0141] 如表5中所示,通过将BoNT/A药物物质(DS)的适当等分试样与不同的抗氧化剂混合来制备本体药物产品溶液。如所列出的,所有制剂均含有8%w/w海藻糖、4%w/w P 188、20mM组氨酸缓冲剂(pH 6.0)和一种或多种抗氧化剂。目标效能为100U/mL。将本体溶液装入

2mL玻璃瓶(1.25mL填充)中,并用橡胶塞和铝壳密封。在填充(零时间,t0)和40℃下储存两周和1个月后,通过基于细胞的效能测定法(CBPA)测试制剂的效能。效能测试结果在表5中给出。

[0142] 表5:液体制剂

[0143]

	抗氧化剂[2]							效能 U/mL		
制剂编号[1]	NAC %	Met %	TRP %	GSH %	NaSul %	PrpGal %	EDTA %	T0	2周,40℃	1个月,40℃
制剂 20		0.2						126	129	130
制剂 21			0.2					127	13.71	NT[3]
制剂 22				0.2				123	3.76	NT
制剂 23					0.2			23.7	0.161	NT
制剂 24						0.2		0.164	0.150	NT
制剂 25	0.2		0.2					133	0.253	NT
制剂 26	0.2						0.03	129	127	127
制剂 27	0.2		0.2				0.03	129	125	122
制剂 28			0.2	0.2				126	2.45	NT

[0144] [1]每种制剂均含有溶于20mM组氨酸缓冲剂(pH 6.0)中的100U/mL肉毒杆菌毒素、8w/w%海藻糖和4w/w%泊洛沙姆P188以及指定的抗氧化剂。

[0145] [2] NAC=N-乙酰-L-半胱氨酸;Met=L-甲硫氨酸;TRP=L-色氨酸;GSH=L-谷胱甘肽;NaSul=亚硫酸钠;PrpGal=没食子酸丙酯;EDTA=乙二胺四乙酸钠盐。

[0146] [3] NT=未测试

[0147] 在不脱离本公开的实质和范围的情况下,本领域普通技术人员可以进行许多改变和修改。因此,必须理解,所描述的实施方案仅出于示例的目的而示出,并且这些实施方案不应被视为限制以下权利要求书的范围。因此,以下权利要求书应理解为不仅包括字面上示出的元素的组合,而且包括用于以基本上相同的方式执行基本上相同的功能以获得基本上相同的结果的所有等同元素。因此,权利要求书应理解为包括上文已描述的那些、概念上等同的那些以及结合本公开的想法的那些。